

Die Wirkung einiger Coccidiostatica auf *Nosema apis* (Zander 1909)

Wolfgang Kienle

1973

Aus dem Zoologisch-Parasitologischen Institut
der Tierärztlichen Fakultät der
Universität München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h.c. H. L i e b m a n n

DIE WIRKUNG EINIGER COCCIDIOSTATICA
AUF NOSEMA APIS (ZANDER, 1909)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde
der Tierärztlichen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität München

von
Wolfgang Kienle

aus
Schwabmünchen

München 1973

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen
Fakultät der Universität München



Dekan: Prof. Dr. E. Dahme
Referent: Prof. Dr. Dr. h.c. H. Liebmann
Korreferent: Prof. Dr. I. Gylstorff

Tag der Promotion: 23. Februar 1973

MEINEN LIEBEN ELTERN
IN DANKBARKEIT

INHALTSVERZEICHNIS

=====

	Seite
I. EINLEITUNG	7
II. DIE NOSEMATOSE DER HONIGBIENE (anhand der Literatur)	9
1. Die Biologie des Erregers	9
2. Pathogenese und Pathologie	12
a) Pathogenese	12
b) Pathologie	14
3. Klinik	15
4. Diagnose	16
5. Therapie und Prophylaxe	17
a) Allgemeine Substitutionstherapie	17
b) Spezifische Chemotherapie	17
c) Hygienemaßnahmen	20
d) Desinfektion und Sterilisation	21
III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	23
A. Material und Methodik	23
1. Material	23
a) Infektionsmaterial	23
b) Bienenmaterial	24
c) Bienenhaltungsvorrichtungen	25
2. Methodik	25
a) Die künstliche Infektion für den Versuch in vitro - für den Feldversuch	25/26
b) Die verwendeten Medikamente	26
c) Wirksamkeitsprüfungen in vitro und im Feldver- such	28/29
d) Kontroll- und Vergleichsversuch in vitro-Versuch / Feldversuche	29/30
e) In vitro-Versuche	30
f) Feldversuche	35

	<u>Seite</u>
B. Ergebnisse	37
a) in vitro-Versuche	37
b) Feldversuche	59
IV. DISKUSSION	62
V. ZUSAMMENFASSUNG	67
SUMMARY	68
VI. LITERATURVERZEICHNIS	69
Lebenslauf	74

I. EINLEITUNG

Nach Jahresberichten des Landesverbandes Bayerischer Imker verursacht auch heute noch der Erreger der Darmseuche, die allgemein als Frühjahrssterben bezeichnet wird, die wirtschaftlich bedeutendsten Bienenverluste. Die Nosematose setzt die Leistungsfähigkeit der befallenen Völker herab und stört das soziale Gefüge des Bienenstaates, was bis zum Zusammenbruch ganzer Bienenstände führen kann.

So berichtet die Bayerische Landesanstalt für Bienenzucht in Erlangen, daß im Jahre 1969 von 1.724 eingesandten Proben 1.119 und im Jahre 1970 von 1.360 Proben 688 nosematös waren.

Nach DREHER (1968) ist die Honigbiene das viertwichtigste Haustier nach Rind, Schwein und Huhn. Bei der Betrachtung nicht nur ihres direkten Produktionswertes - insbesondere Honig und Wachs - sondern auch ihres indirekten, der Bestäubung von wichtigen Kultur- und Obstpflanzen, ist es vom ökonomischen Standpunkt her unerläßlich, ein hochwirksames und auch preislich günstiges Heilmittel gegen diese Erkrankung zu haben. Die Betonung liegt dabei auf preislich günstig, da wirksame und leicht zu handhabende Heilmittel, wie Fumidil B[®] (Hersteller: DEUTSCHE ABBOTT GmbH, Ingelheim am Rhein) und Nosemack[®] (Hersteller: Heinrich MACK Nachf., Illertissen) schon seit längerem im Handel sind.

In Anbetracht der nahen Verwandtschaft zwischen den Coccidien und *Nosema apis* (Zander 1909) wäre es von allgemeinem Interesse festzustellen, ob und in welcher Intensität *Coccidiostatica* auch diese Mikrosporidien zu beeinflussen vermögen, zumal sie im Vergleich zu Fumidil B und Nosemack erheblich billiger sind.

Herr Prof. Dr. Dr. h.c. H.Liebmann beauftragte mich deshalb mit Untersuchungen zur Klärung dieser Fragen. Ihm sei an dieser Stelle für die Themenüberlassung sowie für die freundliche Unterstützung während der Durchführung der Arbeit herzlichst gedankt.

Herr Florian Egger stand mir bei der praktischen Durchführung der

Feldversuche stets mit seiner langjährigen imkerlichen Erfahrung in selbstloser Hilfsbereitschaft zur Seite.

Für die freundliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung danke ich Herrn Dr. K. Osterkorn.

II. DIE NOSEMATOSE DER HONIGBIENE (anhand der Literatur)

1. Die Biologie des Erregers

Um die Wirkungsweise eines Medikamentes darstellen zu können, ist es unerlässlich, die Lebensbedingungen und speziellen Eigenschaften - Vermehrung und Ernährung - des Erregers genau zu kennen, die sich aus seiner Stellung innerhalb des biologischen Systems ergeben. Nur so kann er als Dauerform oder in seinen Entwicklungsphasen gezielt erfaßt werden.

Nosema apis kommt außerhalb des Wirtes nur in seiner Dauerform, der Spore vor, während sie innerhalb der Biene sowohl im Epithel des Mitteldarmes als auch in dessen Lumen und dem der Kotblase zu finden ist.

In der Übersicht erscheint bei schematischer Darstellung die Entwicklung von Nosema apis wie folgt (modifiziert nach ZANDER 1947):

exogen: (außerhalb der Biene)
Spore mit Embryonalkeim

endogen: (innerhalb der Biene)

1. extrazellulär im Mitteldarm der Biene

- a) Amöboidkeim (stellt das Verschmelzungsprodukt aus den zwei Amöboidkernen dar)
 - b) Planont (Wanderzelle)
- a und b sind aktiv bewegliche Teilungsstadien

2. intrazellulär im Mitteldarm der Biene

- a) Meront
 - b) Plasmodien
 - c) Sporont
 - d) Sporoblast
- a und b sind Vermehrungsstadien
c und d sind Sporenbildungsstadien
a mit d sind unbeweglich

3. extrazellulär im Mitteldarm der Biene

Jungspore: sie ist lichtdurchlässig und vakuolenbildend

exogen: (außerhalb der Biene)

Altspore: sie ist lichtundurchlässig und hat eine harte Schale

ZANDER (1947) schildert die Morphologie der jeweiligen Vermehrungsstadien, während BORCHERT (1966) sich eingehender dem Infektionsweg des Erregers zuwendet. So infiziert sich die Biene oral mit ubiquitär vorkommenden Sporen, die mit dem Kot ausgeschieden werden. Die aufgenommene Spore, $\varnothing$ 5-7 μ lang und 3-4 μ breit, gelangt in den Darm und siedelt sich nach STECHE (1960) im caudalen Teil des Mitteldarmes an. Auf dem Polfaden, der durch die Mikropyle herausgeschleudert wird, wandert aktiv der in der Spore als Embryonalkeim vorliegende Amöboidkeim mit Pseudopodien zur Basis der Darmepithelzellen. In diesem Stadium wird der Erreger als Planont (Wanderzelle) angesehen. Er ist das Produkt einer Kernverschmelzung der zwei Kerne des Amöboidkeimes (Autogamie).

Ist ein Planont in eine Darmepithelzelle gelangt, so beginnt er sich zu teilen (Schizogonie) und zwar in derart rascher Folge, daß die Plasmateilung oft mit der Kernteilung nicht mehr Schritt halten kann. Die Folge sind mehrkernige Gebilde, die als Plasmodien bezeichnet werden. Während dieses Teilungsstadiums ernährt sich der Erreger vom Zellinhalt und verursacht dadurch den eigentlichen Schaden. Aus der raschen Teilungsfolge ergibt sich der enorme Nährstoffbedarf der Meronten, der zur Degeneration und schließlich zur Abstoßung der Zelle in das Darmlumen führt. Ab dem 3. Tag post infectionem, dem Zeitpunkt, an dem die Zellschädigung durch die Meronten beginnt, bilden sich aus diesen die Vorläufer der Dauerform, sogenannte Sporonten. Diese sind länglich und an den Enden zugespitzt. Aus dem Sporoblasten wird die Dauerform des Erregers, die Spore, bestehend aus Amöboidkeim, Polfaden, Polkapsel und Schale. Die Jungsporen sind lichtdurchlässig und haben deutlich sichtbare Vakuolen, während die Altsporen lichtundurchlässig sind und eine harte, widerstandsfähige

Schale aufweisen, die aus drei unterschiedlich dicken Schichten besteht, wie WILDFÜHR und FRITZSCH (1969) elektronenmikroskopisch nachweisen konnten.

Vergleicht man den Lebenszyklus von *Nosema apis* mit dem der Coccidien, so erscheint die biologische Beziehung der beiden von der Systematik her verwandten Erregergruppen noch deutlicher:

Die Coccidienvermehrung:

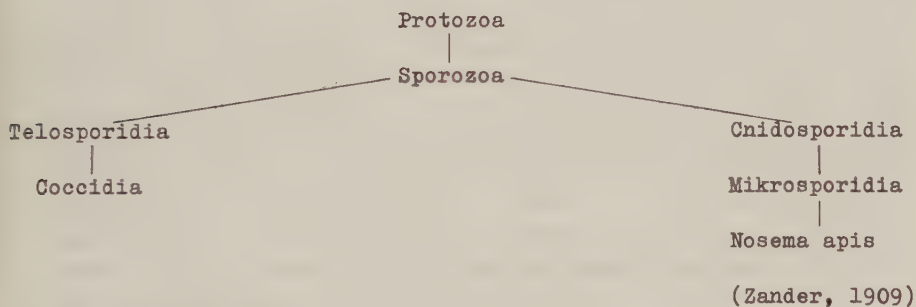
exogen: Oozyste (Dauerform)

endogen: a) intrazellulär: Schizogonie (asexuell)

b) extrazellulär: Gametogonie (sexuell)

exogen: Oozyste (Dauerform)

Die Verwandtschaft der Coccidien mit dem Microsporidium *Nosema apis* läßt sich nach BORCHERT (1966) wie folgt darstellen:



2. Pathogenese und Pathologie

a) Pathogenese

Das Wesen des Parasitismus besteht nach GOTTSCHALK (1970) darin, daß ein Erreger dem Wirt mehr oder weniger aufbereitete Nahrungsstoffe oder Körpersubstanzen entzieht, ohne dessen Existenz durch seine räuberische Lebensweise zu gefährden. So spricht er von einer parasitophyletischen Regel:

Wirt und Parasit sind aufeinander eingespielt, wobei die Zahl der Partnerschaften nicht unbegrenzt sein kann; daraus resultiert ein gewisser Schutz und Nutzen für alle beteiligten Partner.

ALBERTI (1954) zitiert Gontarski, der diesen Gleichgewichtszustand zwischen *Nosema apis* und befallener Biene als Commensalismus bezeichnete. Von besonderem Interesse war von jeher die Frage nach den Ursachen, welche als auslösende Faktoren für den Nosemabfall in Frage kommen und im weiteren den Übergang vom Befall zur Seuche beeinflussen oder bewirken. Die verschiedenen Thesen, welche zwischen 1928 und 1943 darüber aufgestellt wurden, zählt ALBERTI (1954) auf.

Aufgrund neuerer physiologisch fundierter Erkenntnisse zeigt FEILING (1965) auf, daß durch *Nosema apis* bedingte Verluste gehäuft in Gebieten mit stark wechselhaftem, rauhem Klima auftreten, das heißt, je ungünstiger das Biotop ist, in dem das Volk steht, desto krankheitsgefährdeter ist es.

Der Zustand eines Bienenvolkes im Frühjahr hängt von den Pflegemaßnahmen im Sommer und Herbst ab. STECHE (1960) zählt die in Frage kommenden Faktoren auf, die Einfluß auf die Nosematose haben. Auch er hält das Biotop für einen dominanten Faktor wie Jahreszeit, Klima, toxische Einflüsse, Trechtverhältnisse, ortsübliche Betriebsweise. BÖTTCHER et al. (1964) betonen darüber hinaus die besonders rassengebundene Anfälligkeit.

Für außergewöhnliche, prädestinierende Belastungen hält STECHE (1960) das Brutgeschäft als Stoffwechselbelastung, die Infektion mit *Malpighamöba* als Begleitparasit, die zur Sekretionsstörung führt, und

schließlich jegliche in den normalen Stoffwechsel nicht miteinbezieh-
baren Stoffe wie Pestizide, fluorhaltige Industrieabgase etc.

Eiweißüberschuß, den die Winterbiene als "Eiweißpolster" für ihre
Langlebigkeit aufweisen muß, ist der ideale Nährboden für den Para-
siten, wobei die durch den Erreger hervorgerufene Eiweißblücke erst
im Frühjahr erkenntlich wird. Das Brutbild ist somit das Barometer,
an dem die Nosematosegefahr abgelesen werden kann. Besonders im Alter
der Bienen versucht STECHE (1968) die Eiweißdisproportion nachzuwei-
sen. Er führt aus, daß mit zunehmendem Alter der Bienen sich das Mit-
teldarmvolumen reduziert und damit eine Änderung der peritropfen Hül-
le einhergeht. Dies führt zu einer verminderten Eiweißresorptions-
fähigkeit und damit verbleiben im Mitteldarm die entsprechenden Sub-
stanzen länger als bei der Jungbiene. GONTARSKI und MEBS (1964) füh-
ren durch Versuche den Beweis, daß Eiweißfütterung eine nosemaför-
dernde Wirkung hat. So stellen sie zwei künstlich infizierte Bienen-
gruppen auf, wobei die eine mit von Bienen verarbeiteten Pollen (Bie-
nenbrot), die andere mit reinem Zuckerwasser ernährt wird. Die erste
Gruppe wies erheblich stärkeren Nosemabefall auf und zwar lag der
Mittelwert der Sporenzahl 70 % über dem der pollenfreien Futtergrup-
pe. Welche spezifischen Eiweißstoffe oder Aminosäuren in den Pol-
len die Parasitenentwicklung fördern, konnte nicht festgestellt wer-
den, wogegen Bretschko, zitiert von GONTARSKI und MEBS (1964), in den
Vitaminen die Ursache gefunden zu haben glaubt. So sei Vit. B₁ nose-
mafördernd, Vit. B₂ nosemahemmend. HEROLD (1969) hält vor allem eine
alkalische Umgebung für krankheitsfördernd. Im Blatthonig sind mehr
Mineralstoffe als im Blütenhonig. Darunter sind solche, die eine al-
kalische Reaktion erzeugen. Für besonders gefährlich hält er in die-
sem Zusammenhang Tannen- und Lindenhonig.

Die Körpertemperatur hängt stark von der Umgebung ab. Im Inneren der
Wintertraube steigt die Temperatur nicht über 25° C. Dabei stagniert
die Nosemaentwicklung. Wenn in der zweiten Winterhälfte der Darm der
Bienen mit Ballaststoffen gefüllt ist, entsteht Unruhe und damit
steigt die Körpertemperatur. Darmüberlastung kann unter anderem er-
zeugt werden durch Ausfall des spätherbstlichen Reinigungsfluges,
ballastreiches Futter, zu hohe Feuchtigkeit oder Blatthonig.

Nach OERTEL (1967) sind für die Nosematose Bienenvölker besonders anfällig, die zur Zucht von Königinnen verwendet werden, da sie alle 3 - 4 Tage gestört werden.

Für Faktoren, die den Übergang vom "Befall" zur "Seuche" bewirken, hält STECHE (1960) die augenblickliche Belastung des Darmsystems und die von der Witterung am Standort abhängige Möglichkeit zum Abkoten im Fluge. Durch monatliche Erfassung der Temperaturmittelwerte allein können lange Flugsperren nicht erklärt werden, da noch andere Faktoren mitspielen, wie z.B. Luftfeuchte, Lichtverhältnisse, Windstärke und -richtung.

POPA (1961) meint dazu: "In manchen Jahren geht die Nosematose von latenter zu akuter Form über und zwar unter dem Einfluß ungünstiger Faktoren wie Nektar- und Pollenmangel im Herbst; daraus folgt Untätigkeit der Bienenvölker sowie Verharren der Flugbienen im Stock; im weiteren das Vorhandensein von Honigtau im Winter und ungünstige Witterungsverhältnisse (kaltes, regnerisches Frühjahrswetter)".

b) Pathologie

Der pathologisch erfaßbare, akute Verlauf stellt sich bei der Einzelbiene nach ZANDER (1947) und STECHE (1960) wie folgt dar: Eine starke Beeinträchtigung der Flugfähigkeit ist zu vermerken. Man bezeichnet derartig geschädigte Bienen auch als "Krabbler". Der aufgetriebene Hinterleib, der milchig trübe Mitteldarm, die stark gefüllte Kotblase mit zum Teil flüssigem Inhalt sind pathologische Befunde. Histologisch ist eine Zerstörung der peritrophen Membran und der Epithelzellen bis hinab zur Basalmembran zu beobachten. BÄHRMANN (1967) konnte bei Bienen 21 Tage post infectionem Zusammenballungen von Darmzellen bzw. Epithelzellresten im aboralen Teil des Ventriculus darstellen, die von Destruktion und Desquamation des Mitteldarmepithels herrührten. Nachgewiesen haben STECHE (1960) und JORDAN (1962) den Erreger noch in der Haemolympe, den malpighischen Gefäßen, Kopfdrüsen sowie den Eierstöcken der Königin.

LOTMAR (1936) weist besonders auf die Degeneration der Futtersaftdrüsen hin, die zu einem Absinken der Sekretionsleistung führt. STECHE (1960) hingegen macht auf die Beeinträchtigung der Darmepithelzellen aufmerksam.

3. Klinik

Der Erreger findet sich ubiquitär. Die Übertragung von Biene zu Biene ist durch die Volksstruktur gegeben, wie Wabenbau, Brut, infizierte Königin; von Volk zu Volk durch den Imker, die moderne Mobilbauweise der Beute, Schwärmen, Verfliegen, Räuberei und Gliedertiere als Mitbewohner des Bienenstockes (BORCHERT 1950).

Klinisch apparent wird die Infektion nur unter besonderen Umständen, nämlich bei Änderung der Reaktionslage des Infektionsträgers. So führt der Befall einmal zur Vernichtung ganzer Bienenstände, das anderemal ist der Parasit ohne jegliche Pathogenität.

Die natürliche, mutative Resistenz der Biene gegenüber der Noxe einerseits und die krankmachende Wirkung, die Virulenz des Erregers andererseits sind die beiden Faktoren, die den fakultativ pathogenen Erreger entscheidend in seiner Wirkungsweise beeinflussen (FEILING 1965).

Für die chronische Volkserkrankung ist charakteristisch, daß die gesunde Königin den Bienenausfall noch schnell genug ersetzen kann. Es folgt im Anschluß daran eine schlechte Frühjahrsentwicklung im Mai und Juni. Ab Juli aber hat sich das Volk selbst gereinigt, die hauptsächlich gefährdeten Altbienen sind abgestorben und nun durch neue, gesunde ersetzt worden (ZANDER 1947).

Die akute Verlaufsform, die Seuche, ist nach STECHE (1960) dann gegeben, wenn der Totenfall größer ist, als er durch Substitution aus der Brut aufgefangen werden kann. Dadurch fallen ganze "Spezialistengruppen" (Sammlerinnen, Wächterinnen usw.) infolge der gestörten Arbeitsteilung aus, was innerhalb kurzer Zeit zum Zusammenbruch eines Volkes führt.

4. Diagnose

Bei der Nosematose ist nicht nur der qualitative, sondern besonders der quantitative Verseuchungsgrad eines Volkes von Wichtigkeit. Zu diagnostischen Zwecken werden im wesentlichen zwei unterschiedliche Methoden angewandt, nämlich die individuelle, d.h. die Untersuchung einer bestimmten Anzahl einzelner Bienen sowie die Massenuntersuchung, die in einem einzigen Arbeitsgang vor sich geht. BORCHERT (1950) schlägt vor, 30 Bienen am Flugloch abzufangen und deren Darmabstriche einzeln zu untersuchen oder 30 Flugbienendärme im Mörser zu zerreiben und davon einen Ausstrich anzufertigen. Diese Methoden führen nur zum Sporennachweis, ohne eine quantitative Aussage zu ermöglichen. Die Befallsintensität ist nach dem Gesamtzustand des Volkes zu beurteilen, wie z.B. Brutpflege, Besatzdichte, Verschmutzung (JORDAN 1963).

BÖTTCHER et al. (1962) geben eine einfache Methode zur Abklärung an, ob Nosematose vorliegt: sie legen eine saubere Glasplatte eine Woche lang unter den Wabenbau, waschen den angesammelten Schmutz ab und untersuchen den Bodensatz unter dem Mikroskop.

BRETSCHKO (1967 a) empfiehlt eine sehr rationelle Methode, mit deren Hilfe man in 4 Stunden 1.000 Proben untersuchen kann: jeweils einen Salbentiegel voll Bienenhinterleiber eines Volkes mit wenig Wasser zerreiben, die Aufschwemmung in eine Zerkleinerungsmaschine geben, kurze Zeit bei 24.000 Umdrehungen pro Minute darin belassen und pro Objektträger zwei Proben auflegen.

ARMBRUSTER (1937) macht folgende zwei Untersuchungsvorschläge: der erste besteht darin, daß er 20 Bienendärme eines Volkes einzeln untersucht. Findet er dann z.B. 14 mit Sporen und 6 ohne, so spricht er von einem 70 %igen Befallsgrad. Bei Massenuntersuchungen nimmt er alle 20 Därme zusammen, zerreibt sie und fertigt ein Quetschpräparat an. Eine sehr hohe Sporenzahl ergibt die Beurteilung 5, keine 0.

JORDAN (1963) gibt eine modifizierte Methode nach Armbruster an. Um den tatsächlichen Infektionsgrad eines Volkes zu ermitteln, fängt er

20 Flugbienen mit Höschen, da Jungbienen nosemafrei sind, am Flugloch ab und untersucht deren Därme, die hierzu zerrieben und dann mit Tusche angefärbt werden, auf dem Objektträger, wobei er zwischen leicht-, mittel- und hochgradig befallenen Bienen unterscheidet.

STECHE (1963) rät zum selektiven Anfärben des Erregers auf dem Ausstrichpräparat: mit Osmiumsäure 1 Minute durch Bedampfen fixieren und 45 Minuten mit Giemsa anfärben.

5. Therapie und Prophylaxe

Bei der Behandlung der nosematösen Einzelbiene unterscheidet man zwei deutlich voneinander zu trennende therapeutische Stoffgruppen. Die erste ist als Substitutionstherapie zur Kräftigung der Darmepithelzellen gegen das Eindringen der Erreger anzusehen, während die zweite die Nosema selbst, d.h. deren einzige "bloße Stelle", die Vermehrungsstadien, angreift.

a) Allgemeine Substitutionstherapie

In die erste Gruppe gehören unspezifische Mittel wie Tee, Essigsäure, Aminosäuren, NaCl, NaSO₄ (GONTARSKI und WAGNER 1954).

HRISTEA (1969) berichtet von guter präventiver Wirkung bei Anwendung folgender Fütterung: 1 Ltr. H₂O, 600 g Zucker, 50 g Bierhefe (Vit. B₂). Als Heilmittel selbst empfiehlt er den alkoholischen Extrakt aus Artemisia Absinthii. FRITZSCH (1970) führt das alte Hausmittel decotus corticis quercus an. BORCHERT (1950) berichtet von nosemaheilenden Mitteln wie Chinin, Formalin, Glaubersalz, Kochsalz, Salizylsäure oder Methylenblau.

b) Spezifische Chemotherapie

Hierzu sind solche Mittel zu rechnen, die den Erreger selbst anzugreifen vermögen. GONTARSKI und WAGNER (1954) führen Quecksilberverbindungen an, die auf die Vegetativformen des Erregers wirken

und die intrazelluläre Parasitenentwicklung unterbrechen.

MOFFETT et al. (1969) berichten, daß bis jetzt über 200 chemische Verbindungen im Versuch standen, wobei sie selbst 24 im Großversuch ausgetestet haben.

GONTARSKI (1954) fand das erste anerkannte Nosemacidum Aethylmercurithiosalicylsäure-Natriumsalz (Nosemack) und er bestätigte dessen Wirksamkeit im Großversuch (GONTARSKI 1955).

SCHMUCKER (1964) berichtet über die gute Wirksamkeit des Nosemack, die sich in zehnjährigem Einsatz immer wieder bestätigte.

HEROLD (1956) und STECHE (1968) geben Ratschläge, die bei der Verabreichung eines Medikamentes zu beachten sind. So weisen sie eindringlich daraufhin, daß alle Bienen das Medikament aufnehmen müssen. Deshalb sollte man bei der Verabreichung ein Geschmackskorrigens in Form von Honig oder Bientee begeben bzw. gleich die ganze Wabe besprühen. Auch der Zeitpunkt der Verabreichung ist von besonderer Bedeutung, denn je früher mit der Nosemack-Behandlung begonnen wird, desto größer ist die Erfolgsaussicht, da infolge der noch geringen Größe des Volkes alle Bienen das Mittel in ausreichender Menge aufnehmen. Auch soll man das Mittel geben, wenn Trachtlosigkeit oder witterungsbedingte Flugpausen die Bienen im Stock festhalten, damit keine Verdünnung der Wirksubstanz eintreten kann.

HANSSON (1962) empfiehlt eine prophylaktische Nosemack-Behandlung aller Völker im Frühjahr oder Spätsommer, wozu auch er trachtfreie oder -arme Zeiten für günstig hält, da sonst die Medikamentkonzentration durch die Nektarbeimischung zu schwach wird. FRITZSCH (1970) empfiehlt als Dosierung 1 Tablette pro Ltr. 25 %igen Zuckerwassers. VORWOHL (1966) stellt in einem Versuch Fumidil B dem Nosemack gegenüber, wobei sich Fumidil B als eindeutig wirksamer erweist. BÖTTCHER et al. (1963) berichten von einem ähnlichen Versuchsausgang. Viele Autoren bestätigen den erfolgreichen Einsatz des Antibiotikums Fumidil B, das aus dem Schimmelpilz *Aspergillus fumigatus* isoliert wurde (BÖTTCHER et al. 1963, 1964; VORWOHL 1966; BRETSCHKO

1967 b). Der Wirkungsmechanismus dieses Mittels ist noch nicht völlig geklärt; man nimmt aber an, daß die infektiöse Planontenphase von *Nosema apis* vor dem Eindringen in die Darmepithelzellen und auch die intrazellulären vegetativen Entwicklungsformen abgetötet werden. Eine Beeinflussung der Sporen kann ausgeschlossen werden (FRITZSCH 1970).

BUZA (1965) schlägt eine Kombinationstherapie mit Fumidil B und Oxytetracyclin in Futterteigform vor, wobei Fumidil B den Erreger selbst in seinen Entwicklungsphasen angreift, Oxytetracyclin hingegen als Aktivator für die Entwicklung der Völker dienen soll. BRETSCHKO (1967 b) empfiehlt neben Fumidil B noch eine Verabreichung von Vit. C (1 %), weil damit die nosemafördernde Wirkung des Eiweißes kompensiert werde. BÖTTCHER et al. (1970) hingegen warnen davor, Fumidil B mit Säuren zusammenzubringen, da dies einen nosemafördernden Effekt zur Folge haben könne. MOFFETT et al. (1969) setzten das Fumidil B vergleichend mit anderen Medikamenten ein und es bestätigte sich, daß Fumidil B das wirksamste Mittel unter 24 getesteten war.

BRETSCHKO (1963) untersuchte anhand von 6 Versuchsgruppen, wobei auch Fumidil B zur Kontrolle verwandt wurde, wie weit die Ernährung mit Zucker oder Eiweiß die Nosemaentwicklung beeinflusst. Eindeutig hatte die Gruppe mit der reinen Eiweißfütterung ohne jegliches Medikament den höchsten Gesamtnosemabefall und Totenfall; die Fumidil B-Gruppe mit Zuckerlösung schnitt dagegen am besten ab. Bei der Fumidil B-Therapie ist prinzipiell folgendes zu beachten: will man das Mittel im Futterteig darreichen, so besteht er aus 1 kg Honig, 5 g Fumidil B, das in kaltem Wasser aufgelöst und unter den Honig gemischt wurde. Davon verabreicht man 0,5 kg jedem Volk.

Die Zuckerlösung wird so hergestellt, daß 1/2 Fläschchen Fumidil B in kaltem Wasser aufgelöst und mit 7 Ltr. 30 %iger Zuckerlösung vermischt wird. Damit soll am besten gleich die ganze Wabe mit Tierbesatz besprüht werden. Der Vorteil des Sprühverfahrens besteht darin, daß die Bienen das Mittel zwangsweise aufnehmen, wobei zu beachten

ist, daß die Witterung genügend warm sein muß und dieses Verfahren nur abends nach dem Flugeinstellen angewendet wird, damit alle Flugbienen erfaßt werden. Nach 24 Stunden sollte das Besprühen wiederholt werden (Bundeslehr- und Versuchsanstalt für Bienenkunde Wien, 1964).

c) Hygienemaßnahmen

Die Voraussetzung für die Haltung eines nosemafreen Volkes ist eine gesunde Königin. Nach JORDAN (1965) ist dies zu erreichen, wenn man folgende Vorschriften beachtet: Zur Zucht dürfen nur nosemafreie Völker und Vaternölker verwendet werden. Zur Königinnenzucht sind Mehrwabenbegattungskästchen zu verwenden, da in ihnen die ideale Bruttemperatur erzeugbar ist, wohingegen Einwabenkastenvölker durch Untertemperatur gefährdet sind. Nie dürfen die Bienen des Pflegevolkes vor Einbringen in die Begattungskästchen betäubt werden, da sie dabei abkoten. Die Zuchtgeräthygiene spielt ebenfalls eine wichtige Rolle. Die allgemeine Hygiene am Bienenstand sollte nach JACHIMOWICZ (1966) folgende Punkte berücksichtigen:

Die Zahl der Völker muß auf die Trachtverhältnisse abgestimmt sein. Die maximale Anzahl bei optimalem natürlichen Futterangebot sind 30 Völker auf 2 km Aktionsradius, um keine Futterkonkurrenz entstehen zu lassen. In der Wintertraube ist besonders darauf zu achten, daß die Nestflüchter die Beute verlassen können, da sie meist alt und krank sind. Der Totenfall soll regelmäßig gesammelt und entfernt werden. Wie schon STECHE (1960), so weist auch JACHIMOWICZ (1966) besonders auf die Art der Aufstellung des Bienenstandes hin, denn davon sind Zeit und Stärke des Reinigungsfluges abhängig; das Flugloch soll nach Süden zeigen, der Stand an windgeschützten Südhängen ohne Kältestau stehen. In den warmen Mittagsstunden ist es vorteilhaft, die Fluglöcher vorübergehend zu erweitern, damit die Warmluft in die Beute eindringen kann. Die Temperatur innerhalb des Stockes ist von besonderer Bedeutung: HEROLD (1969) hält 30-33° C für die optimale Entwicklungstemperatur der Nosematose. Da bei winterlichen Stocktemperaturen von 20-22° C keine Nosemaentwicklung möglich ist, soll-

te der Winterschutz der Bienenwohnungen nicht übertrieben werden. Über 37°C hinaus ist auch keine Parasitenentwicklung mehr möglich. Deshalb ist es ratsam, im Frühjahr, besonders zur Zeit der Bruttätigkeit, das Volk warm zu verpacken, damit die Stocktemperatur über 34°C steigt (GONTARSKI und WAGNER 1954). Dadurch erhöht sich auch die Hinterleibstemperatur der Biene auf 37°C , was dann wiederum als Hemmtemperatur für *Nosema apis* anzusehen ist.

Fließendes Trinkwasser, Sauberhalten des Bienenstandes, insbesondere des Flugbrettes und des Beutebodens, Hygiene der Geräte und des Futters sind unbedingte Notwendigkeiten. Um mit Sicherheit ein nosemafreies Volk zu erhalten, bedient sich WEISKE (1971) der Methode Zanders, die auf der Tatsache beruht, daß Brut und frisch geschlüpfte Bienen nosemafrei sind. Durch Trennung der Brut von Altvolk und Königin wird die Ansteckung durch diese ausgeschaltet. Jetzt hat das junge Volk nur noch gegen die Sporen der vorhandenen Jungbienen und mitgebrachten Brutwaben anzukämpfen. Eine Trennung von Flugbienen und Ableger muß aber vorher erfolgt sein.

d) Desinfektion und Sterilisation

Nach der Betrachtung der hygienischen Haltungsweise zur Nosematoseeinschränkung ist zur Durchführung derselben die Kenntnis der sporociden Mittel notwendig und zwar von denjenigen in erster Linie, die die Sporen außerhalb des Wirtes irreversibel schädigen. ALBERTI (1954) untersuchte die Widerstandsfähigkeit der Sporen unter natürlichen Umweltbedingungen. So konnten die Sporen bei einer Einlagerung bis zu 40 Tagen in Lösungen von pH 10,1 - 3,85, in sauerstofffreiem Wasser, in Natriumchloridwasser und in Wasser der Karbonathärte 13,26 DH und einer Gesamthärte von 32,35 GH nicht geschädigt werden.

Rein physikalisch sichere sporocide Methoden sind temperaturabhängig. BORCHERT und v. DEHN (1931) berichten über das Abtöten von Sporen in strömendem Wasserdampf innerhalb einer Minute; bei $60 - 65^{\circ}\text{C}$ in 10 Minuten. BÖTTCHER et al. (1970) setzen die Sporen der Sonnenstrahlung aus und stellen nach 8 Tagen Inaktivierung fest.

Von sofortiger Wirkung berichten GONTARSKI und WAGNER (1954) durch 1 % KOH oder NaOH; SHIMANUKI und CANTWELL (1969) schlagen eine Kombinationsdesinfektion von Begasen der nosemainfizierten Beute mit Äthylenoxid (100 ml/l für 48 Stunden) und anschließendem Verbleiben derselben weitere 48 Stunden bei 105 - 110° C und 60 % rel. Luftfeuchte vor; die Waben dagegen brauchen nur 24 Stunden 48,9° C ausgesetzt sein. HANNSON (1962) desinfizierte mit Formalinlösung und Essigsäuredämpfen. STECHE (1968) empfiehlt die Wabendesinfektion mit Eisessigdampf.

III. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

A. Material und Methodik

1. Material

a) Infektionsmaterial

Zur Gewinnung des infektiösen Sporenmaterials dienten stark noseमतöse Völker. Zu diesem Zweck wurden im Mai 1971 am Bienenstand des Institutes von sieben Völkern je 10 Bienen am Flugloch abgefangen und deren Kotblasen und Mitteldärme im Mörser zerrieben und mikroskopisch untersucht. Die Sporenzählung erfolgte fünfmal pro Blickfeld.

In der Übersicht stellt sich das wie folgt dar:

Volk 1

Blickfeld 1	10 Sporen
" " 2	7 "
" " 3	18 "
" " 4	40 "
" " 5	21 "

Volk 2

Blickfeld 1	50 Sporen
" " 2	50 "
" " 3	50 "
" " 4	50 "
" " 5	50 "

Volk 3

Blickfeld 1	9 Sporen
" " 2	14 "
" " 3	7 "
" " 4	17 "
" " 5	11 "

Volk 4

Blickfeld 1-5	0 Sporen
" "	nosemafrei

Volk 5

Blickfeld 1	6 Sporen
" " 2	1 "
" " 3	0 "
" " 4	1 "
" " 5	4 "

Volk 6

Blickfeld 1	3 Sporen
" " 2	4 "
" " 3	2 "
" " 4	6 "
" " 5	3 "

Volk 7

Blickfeld	1		27	Sporen
"	"	2	9	"
"	"	3	11	"
"	"	4	14	"
"	"	5	12	"

Die Völker 2 und 7 lieferten das Infektionsmaterial. Die Kotblasen und Mitteldärme von 100 Bienen wurden mit 30 ml aqua dest. im Mörser zerrieben, durch einen Filter mit $20\ \mu$ Porengröße in der Fritte abgesaugt und 10 Minuten lang bei 1.000 U/min zentrifugiert. Der Bodensatz kam zur mikroskopischen Untersuchung auf seine Sporenzahl in die Thoma-Zeiß-Kammer. Die Handhabung dieser Zählkammer ist bei HALLMANN (1966) beschrieben.

b) Bienenmaterial

Bei der Gewinnung nosemafreier Versuchsbienen bedient man sich der Tatsache, daß die Brut und die frisch geschlüpften Jungbienen stets nosemafrei sind (ZANDER 1947; ALBERTI 1954; FRITZSCH 1970).

Einem Volk, das vorher auf Nosemafreiheit untersucht worden war, wurde eine gedeckelte Brutwabe ohne ansitzende Bienen entnommen, diese in einem Einwabenkasten aufgehängt und im Thermostat bei $31-36^{\circ}\text{C}$ und 50 % rel. Luftfeuchte bebrütet. Sobald der Großteil geschlüpft war - dies ist der Fall innerhalb von 2 - 3 Tagen, nachdem die erste Biene geschlüpft ist - ließen sie sich mit einer Taubenfeder vorsichtig von der Wabe in ein kleines Holzkästchen mit abnehmbarem Gitterdeckel abfegen. Bei diesem Kästchen handelt es sich nur um einen vorübergehend benutzten Käfig, dem durch den leicht abnehmbaren Deckel schnell und sicher Einzelbienen entnommen werden können. Nach 3-stündiger Dunkelhaft und Hungern erfolgte die Infektion.

c) Bienenhaltungsvorrichtungen

Bei den Versuchskästchen, die während des in vitro-Versuches Verwendung fanden, handelt es sich um die von der Bundesforschungsanstalt für Kleintierzucht Braunschweig entwickelten Okulierkäfige. Eine hochziehbare Frontscheibe ermöglicht eine leichte Entnahme der Bienen, das als Boden dienende Drahtgeflecht ermöglicht Frischluftzufuhr. Von oben her kann man durch ein gebogenes Glasröhrchen das Futter einführen (REHM 1968).

Bei den Feldversuchen fanden die Einwabenkästen im Zandermaß Verwendung, die von der Firma Martin in Heimbach/Baden hergestellt werden. Ein Holzrahmen, in dem eine Wabe aufgehängt ist, wird an beiden Seiten durch eine Glasscheibe abgedeckt, die aufklappbar ist. Die für die Bienen von oben her zugängige Futterkammer wird durch 3 Holzleisten, die im Abstand von 8 mm eingelegt werden, unterteilt, damit die dort weilenden Bienen nicht in der Zuckerlösung ertrinken. Der Abstand der Leisten zueinander muß genau eingehalten werden, denn nur bei dieser Lage der Leisten zueinander kann sich die Biene nach dem Vollsaugen wieder aufrichten, da sie sich mit dem Thoraxrücken dabei abstützen können muß. Der Zugang zur Futterkammer mußte erweitert werden, da vollgesaugte Bienen durch den zu dünnen Schlitz nicht mehr zurückkonnten. Durch eine kleine, abnehmbare Glasplatte ist die Futterkammer zum Eingeben erreichbar.

2. Methodik

a) Die künstliche Infektion für den Versuch in vitro

Nach der Methode LOTMAR (1940), modifiziert von ALBERTI (1954), GONTARSKI und MEBS (1964) und FRITZSCH (1970) wird jede Biene einzeln infiziert, indem man mit dem Daumen und Zeigefinger der linken Hand die Flügel während des Schwirrens erfaßt, wobei die rechte Hand die Biene mit einer Pinzette an einem Hinterbein festhält; hierauf wird sie auf den Rücken gelegt und oral mit der Nosema-Zuckerlösung, höchstens 0,02 ml infiziert. Da die Infektionslösung in einer 0,1 ml-

Pipette aufgezogen ist, kann man die von der Biene aufgenommene Flüssigkeitsmenge an der Skaleneinteilung genau ablesen. Dieser Vorgang dauert in der Regel 2 - 3 Minuten.

für den Feldversuch

In zwei kleinen Pillenschälchen aus Plastik, von denen jedes ca. 5 ml faßt, wird eine hochnosematöse Zuckerlösung mit Honig als Geschmacks-korrigens in der Futterkammer zur oralen Infektion angeboten.

b) Die verwendeten Medikamente

Coccidiostatica können von verschiedener chemischer Struktur sein, in ihrer Wirkungsweise sind sie aber insofern gleich, als sie den Parasiten nur während seiner endogenen, asexuellen Phase in Wachstum und Vermehrung hindern.

Im folgenden soll anhand einer Übersicht der jeweilige Wirkungsmechanismus der in dieser Arbeit verwendeten Coccidiostatica sowie ihre Klassifizierung dargestellt werden (nach HEIM 1970):

Folgende Mittel wurden geprüft:

1. Fumidil B[®] : Herst.: C.H. Boehringer Sohn, Ingelheim am Rhein
25 g enthalten 0,5 g Bicyclohexylammonium Fumagillin
2. Amprolvet[®] : Herst.: Therapogenwerk München
30 g enthalten 6 g 1-(4-Amino-2-n-propyl-5-pyrimidinyl-methyl)-2-picoliniumchlorid hydrochlorid
(= Amprolium)
3. Amprolvet[®] Super: Herst.: Therapogenwerk München
100 ml enthalten 6 g Amprolium und 0,38 g 4-Acetamido-2-äthoxy-methylbenzoat (= Ethopabat)
4. Coyden 25[®] : Herst.: TAD Pharmazeutisches Werk GmbH & Co. KG, Cuxhaven
1000 g enthalten 250 g 3,5 Dichlor-2,6-dimethylpyridin-4-ol

5. Eleudron [®] : Herst.: Farbenfabriken Bayer AG, Leverkusen
50 ml enthalten 10 g 4-Aminobenzolsulfonamidothiazol
6. Esb₃ [®] : Herst.: Ciba-Geigy AG, Wehr/Baden
10 g enthalten 3 g N¹-(6-Chlor-2-pyrazinyl)-sulfanilamid Natriumsalz Monohydrat
7. Theracanzan [®] : Herst.: Therapogenwerk München
100 ml enthalten 33,4 g 2,6-Dimethoxy-4-sulfanilamido-pyrimidin (= Sulfadimethoxin)
8. Dervisul [®] -T: Herst.: Impfstoffwerke Friesoythe GmbH
1 ml enthält 6,4 mg 2,4-Diamino-5-(3,4-dimethoxybenzyl)-pyrimidin (= Dieveridin) und 25,6 mg 2-Sulfanilamido-chinoxalin (= Sulfaquinoxalin)
9. Whitsyn-S: Herst.: Whitmoyer Products N.V. Brüssel-Belgien
1 ml enthält 9,12 mg 2,4-Diamino-5-(4'chlorphenyl-6-aethylpyrimidin und 30 mg 2-Sulfanilamido-chinoxalin
10. Sulfanilamidum purum: Reinsubstanz von Fa. Carl Roth oHG, Karlsruhe

Die Ausgangsdosierungen richten sich nach den Angaben der Hersteller, wie sie für die Coccidientherapie vorgeschlagen werden.

I. Prophylaktische Coccidiostatica

- a) Amprovet: Thiaminantagonist (Vit. B)
- b) Amprovet Super: Amprolium (Thiaminantagonist) + Ethopabat (Folsäureantagonist)
- c) Coyden 25: Unterbrechung in der asexuellen Entwicklung (Wirkung auf Sporozoiten und Trophozoiten)

II. Einfache Sulfonamid-Präparate

Sie zeichnen sich durch gute Wasserlöslichkeit, schnelle Resorption und Gewebsdifffusion aus. Sie verdrängen kompetetiv die para-Aminobenzoessäure aus dem Protozoenstoffwechsel und stören dadurch die Synthese der für den Parasiten lebensnotwendigen Folsäure (HELWIG 1970).

- | | |
|---------------------|---|
| a) Esb ₃ | Unterbrechung der asexuellen Entwicklung in der |
| b) Theracanzan | 2. Schizontengeneration |
| c) Eleudron | |

III. Die potenzierten Sulfonamidpräparate

Eine Potenzierung der coccidiostatischen Wirkung wird durch eine Kombination zweier Substanzen auf synergistischem Wege erreicht.

- | | |
|--------------------------|--|
| a) Darvisul-T: | Das enthaltene Sulfonamid (Sulfaquinoxalin) stört die Synthese der Folsäure, während das Diaveridin (synergistischer Potentiator) als Antagonist der Folsäure eine Stufe höher in der Fermentsynthese wirksam ist. |
| b) Whitsyn-S: | Sulfaquinoxalin (Sulfakomponente) +
Pyrimethamin (Potentiator) |
| c) Wirksamkeitsprüfungen | |
| in vitro | |

Zur Abklärung, ob ein Pharmakon die gewünschte Wirkung gegen *Nosema apis* hat, bieten sich zwei Methoden an, die beide in den vorliegenden Untersuchungen angewandt wurden.

Die eine ist die quantitative, die in erster Linie bei Sommerbienen Verwendung findet, da diese kurzlebiger sind. Sie beruht darauf, daß sich Versuchsbienen mit einer festgelegten Anzahl Sporen infizieren, und im Laufe der Zeit eine Überprüfung darüber erfolgt, wieviel Sporen im Vergleich zur Ausgangsinfektion noch nachweisbar sind (ALBERTI 1954; GONTARSKI 1954; FRITZSCH 1970).

Bei den Winterbienen, die eine bedeutend längere Lebensdauer haben, fand die qualitative Methode Anwendung (BRETSCHKO 1963; MOFFETT et al. 1969). Bei ihr werden ein paar hundert Bienen in einem Einwabenkasten bei Optimaltemperatur für Wirt und Parasiten von 31 - 35° C zwei bis drei Wochen gehalten und in dieser Zeit mit hochnosematöser Zuckerlösung gefüttert. Nimmt man nun diese infizierten Bienen als Versuchstiere und hält sie unter Temperaturverhältnissen zwischen 25 - 30° C und 50 - 60 % rel. Luftfeuchte und unter gleichzeitiger Medikamentverabreichung, so ist aus den laufenden Sporenzahluntersuchungen die Wirksamkeit eines Nosemacidums ablesbar.

im Feldversuch

Mit Hilfe der qualitativen Infektionsmethode infiziert sich, wie oben beschrieben, ein Volk. In regelmäßigen Abständen, abhängig von der jeweiligen Witterung, werden dann im Freien je 5 Flugbienen pro Volk am Flugloch abgefangen und deren Mitteldärme bzw. Kotblasen, wenn sie nicht durch die gegebenen Reinigungsflüge entleert sind, auf Sporen untersucht. Die Heilmittelgabe geschieht in einer 50 %igen Zuckerlösung über die Futterkammer innerhalb des Einwabenkastens.

d) Kontroll- und Vergleichsversuch

in vitro-Versuch

Als Medikament-Vergleich dient das in seiner Wirksamkeit bekannte Fumidil B, daneben - parallel zu den Medikamententests - laufen Kontrollen je eine Gruppe nicht infizierter Bienen ohne Medikament K (-) und eine Gruppe infizierter Bienen ohne Medikament K (+). Eine Versuchsgruppe besteht in der Regel aus 3 mal 10 Bienen. Gehalten werden sie in einem Thermostat bei 26° C und 50 % rel. Luftfeuchte.

Feldversuche

Zum Wirksamkeitsvergleich des zu testenden Mittels steht auch hier ein unter Fumidil B gehaltenes infiziertes Volk zur Verfügung; als positive Kontrolle ein infiziertes Volk ohne Medikament. Bei den drei verschiedenen Haltungsbedingungen wurde besonders darauf geachtet, daß die Volksstärke zu Versuchsbeginn gleich, die Königin gesund und die Intensität der Infektion annähernd gleich waren.

e) In vitro-Versuche

Im folgenden wird der zeitliche Ablauf und die gruppenmäßige Anordnung der Versuche I - VIII geschildert.

Die Versuche I - V bestanden aus mehreren Versuchsgruppen mit jeweils 3 mal 10 infizierten Bienen und parallel dazu liefen zwei gleichstarke Kontrollgruppen, eine als positive Kontrolle K (+) infiziert, die andere als negative Kontrolle K (-) nicht. Nach der Infektion bekamen die Tiere 3 Tage lang eine 50 %ige Zuckerlösung angeboten. Diese enthielt ab dem 5. Versuchstag ein Medikament.

Zur Erlangung eines höheren Infektionsgrades und zur Gewinnung von Bienen, die lange genug den Versuch durchstehen können, wurde für die Versuche VI - VIII die qualitative Infektionsmethode herangezogen; dazu aus einem nosemafreien Volk eine dichtbesetzte Wabe entnommen und deren Bienen 2 - 3 Wochen im Thermostat bei 31 - 35° C und 50 % relative Luftfeuchte gehalten und in der Futterkammer mit hochnosematöser Zuckerlösung im Einwabenkasten infiziert. Um aber genauere Sporenzahlmittelwerte zu bekommen, bot sich an, die Versuchsanordnung von GONTARSKI (1954) heranzuziehen, bei der pro Tag und Versuchsgruppe zwei Bienen gleichzeitig zur Untersuchung gelangen.

Bei den Versuchen I - V, die mit der quantitativen Infektionsmethode begannen, gelangte jeden Tag eine Biene pro Versuchsgruppe zur Untersuchung und zwar deren Kotblase und Mitteldarm zusammen.

Bei den Versuchen VI und VII erfolgte die Untersuchung der Kotblasen und Mitteldärme zweier Bienen zusammen, bei Versuch VIII jeweils des Mitteldarmes und der Kotblase getrennt.

Für die Versuchsanordnungen VI - VIII waren mehr Bienen pro Versuchsgruppe notwendig und zwar jeweils 5 x 10.

Versuch I:

Es erfolgte die Untersuchung der Wirksamkeit von Amprolium auf *Nosema apis*. Dazu fanden 150 Bienen, 30 pro Testgruppe, Verwendung.

Die Infektion war eine quantitative: 5.000 Sporen in 0,01 ml 50 %iger Zuckerlösung pro Biene.

Testgruppe 1 0,15 g Amprolium / 1 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Testgruppe 2 1,5 g Amprolium / 1 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Testgruppe 3 15,0 g Amprolium / 1 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Jeden Tag wurde eine Biene pro Testgruppe entnommen, deren Kotblase und Mitteldarm zusammen mit 0,1 ml aqua fontis im Mörser zerrieben, und die Sporenzahl pro 1 ml der Vorlage mit der Thoma-Zeiß-Kammer bestimmt. Die Angabe der Sporen ist in 10.000/ml der Vorlage angegeben. Parallel dazu ist der tägliche Totenfall registriert.

Versuchsbeginn: 2.6.1971; Versuchsende: 20.6.1971

Versuch II:

In 5 Testgruppen testete man die *Nosema*-Wirksamkeit von Eleudron im Vergleich zu Fumidil B. Dazu fanden 150 Bienen, 30 pro Gruppe, Verwendung.

Die Infektion war eine quantitative: 15.000 Sporen in 0,02 ml 50 %iger Zuckerlösung pro Biene.

Testgruppe 1	1 g Fumidil B / 1 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 2	7,5 ml Eleudron / 1/2 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 3	7,5 ml Eleudron / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Die Auswertung entsprach der des Versuches I.

Versuchsbeginn: 28.6.1971; Versuchsende: 11.7.1971

Versuch III:

Ebenfalls im Vergleich zu Fumidil B wurde der Effekt von Amprolvet Super, Theracanzan, Esb₃ und Darvisul-T auf eine Nosema-Infektion getestet.

Dazu standen 210 Bienen, 30 pro Testgruppe, zur Verfügung.

Die Infektion erfolgte quantitativ: 5.000 Sporen in 0,02 ml 50 %iger Zuckerlösung pro Biene.

Testgruppe 1	1 g Fumidil B / 1 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 2	1 ml Amprolvet Super / 1 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 3	1 ml Theracanzan / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 4	500 mg Esb ₃ / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 5	1,5 ml Darvisul-T / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Die Auswertung entsprach der des Versuches I.

Versuchsbeginn: 20.7.1971; Versuchsende: 31.7.1971

Versuch IV:

Ähnlich dem Versuch III wurde die Wirksamkeit von Amprolvet Super Theracanzan, Darvisul-T und Eleudron mit Fumidil B verglichen. Dazu reichten 210 Bienen, 30 pro Testgruppe, aus.

Die Infektion war eine quantitative: 7.500 Sporen in 0,01 ml 50 %iger Zuckerlösung pro Biene.

Testgruppe 1	250 mg Fumidil B / 1/4 Ltr. 50 %iger Zuckerlösung
Testgruppe 2	1 ml Amprolvet Super / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 3	1 ml Theracanzan / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 4	1 ml Darvisul-T / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 5	1 ml Eleudron / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Die Auswertung erfolgte wie bei Versuch I.

Versuchsbeginn: 10.8.1971; Versuchsende: 2.9.1971

Versuch V:

Nochmals kamen Amprolvet Super, Theracanzan, Esb₃ und Eleudron im Vergleich zu Fumidil B zum Einsatz; wieder an 210 Bienen, 30 pro Testgruppe.

Hier fand eine quantitative Infektion Verwendung: 20.000 Sporen in 0,02 ml 50 %iger Zuckerlösung pro Biene.

Testgruppe 1	250 mg Fumidil B / 1/4 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 2	1 ml Amprolvet Super / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 3	1 ml Theracanzan / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 4	500 mg Esb ₃ / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 5	1 ml Eleudron / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Die Auswertung entsprach der des Versuches I.

Versuchsbeginn: 14.9.1971; Versuchsende: 28.9.1971

Versuch VI:

Es sollte die nosemacide Wirkung von Coyden 25, Theracanzan und Esb₃ im Vergleich zu Fumidil B ermittelt werden. Dazu infizierten sich die Winterbienen in einem Einwaberkasten über die Tränke mit hochnosematischer Zuckerlösung qualitativ. Sie hielten sich drei Wochen bei 34° C und 50 % relativer Luftfeuchte im Thermostat auf; hierauf befanden sie sich nach Entnahme von je 5 x 10 Bienen pro Versuchsgruppe in Okulierkäfigen.

Testgruppe 1 250 mg Fumidil B / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Testgruppe 2 500 mg Coyden 25 / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Testgruppe 3 1 ml Theracanzan / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Testgruppe 4 500 mg Esb₃ / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Täglich wurden 2 Bienen pro Testgruppe entnommen, deren Kotblasen und Mitteldärme zusammen mit 0,02 ml aqua fontis im Mörser zerrieben und die Sporenzahl pro 1 ml der Vorlage in der Thoma-Zeiß-Kammer bestimmt. Die Sporenzahl ist in 10.000/ml angegeben.

Versuchsbeginn: 12.10.1971; Versuchsende: 25.10.1971

Versuch VII:

Zum Vergleich mit der Standard-Dosierung von Fumidil B erfolgte die Prüfung der therapeutischen Wirkung von 3 verschiedenen Esb₃-Konzentrationen. Dazu fand Tiermaterial und Infektionsart wie bei Versuch VI Verwendung.

Testgruppe 1 250 mg Fumidil B / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Testgruppe 2 250 mg Esb₃ / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Testgruppe 3 500 mg Esb₃ / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Testgruppe 4 1 g Esb₃ / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Die Auswertung ist analog dem Versuch VI.

Versuchsbeginn: 3.11.1971; Versuchsende: 19.11.1971

Versuch VIII:

Er diente zur Ermittlung der Wirksamkeit von Theracanzan, Esb₃, Whitsyn-S und Sulfanilamidum purum auf Nosema apis im Vergleich zu Fumidil B.

Tiermaterial und Infektionsart entsprachen Versuch VI.

Testgruppe 1	250 mg Fumidil B / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 2	1 ml Theracanzan / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 3	500 mg Esb ₃ / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 4	0,7 ml Whitsyn-S / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
Testgruppe 5	200 mg Sulfan. purum / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Bei Theracanzan, Esb₃ und Whitsyn-S handelt es sich um sulfanilamidhaltige Präparate.

Je nach Versuchsverlauf wurden pro Versuchsgruppe 2 Bienen, und zwar deren Kotblasen und Mitteldärme, getrennt untersucht, um evtl. Aufschluß darüber zu erhalten, in welchem Darmabschnitt die Verringerung der Sporen besonders deutlich war. Die getrennte Zerreibung zweier Kotblasen und Mitteldärme in derselben Wassermenge, nämlich 0,1 ml aqua fontis, ging der Sporenzählung voraus.

Die Ermittlung der Sporenzahl erfolgte wie bei Versuch VI.

Versuchsbeginn: 3.12.1971; Versuchsende: 20.12.1971

f) Feldversuche

Feldversuch A

Die Bienen dreier dichtbesetzter Waben eines nosemafreien Volkes infizierten sich in Einwabenkästen qualitativ. Die Königinnen kamen dazu, nachdem die Infektion angegangen war. Pro Versuchsgruppe stand nur ein Volk zur Verfügung.

Testvolk 1 1 g Fumidil B / 1 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Testvolk 2 2 g Esb₃ / 1 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Kontroll-
volk 3 K (+)

Versuchsbeginn: 4.4.1972; Versuchsende: 27.4.1972

Je nach Witterungsbedingungen gelangten pro Testvolk 5 Flugbienen zur Untersuchung, wobei sowohl 5 Kotblasen als auch 5 Mitteldärme in 0,25 ml aqua fontis zerrieben wurden.

Die Ermittlung der Sporenzahl erfolgte über die Thoma-Zeiß-Kammer, die Zahlenangabe in 10.000/ml Vorlage.

Feldversuch B

Aus nosemafreien Völkern entnommene gedeckelte Brutwaben mit dichtem Bienenbesatz kamen für diesen Versuch in Einwabenkästen, um dort der beschriebenen Infektion ausgesetzt zu werden. Damit die Völker einen möglichst langen Versuchszeitraum garantierten, geschah die Zugabe der Königinnen erst danach über ein Weiselröhrchen.

Testvolk Fu 1 1 g Fumidil B / 1 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Testvolk Fu 2 1 g Fumidil B / 1 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Testvolk Esb₃ 1 2 g Esb₃ / 1 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Testvolk Esb₃ 2 2 g Esb₃ / 1 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung

Kontrollvolk K (+) 1 = infiziert, aber ohne Medikament
Kontrollvolk K (+) 2 (positive Kontrollen)

Je nach Witterung und Volksstärke konnten pro Testvolk und Untersuchungstag 5 Flugbienen am Fluchloch abgefangen und nur deren Mitteldärme untersucht werden. Die Zerreibung der 5 Mitteldärme erfolgte in 0,25 ml aqua fontis, Sporenzahlermittlung und -angabe wie bei Feldversuch A. Die Sporenzahlermittlung in den Kotblasen war infolge der Entleerung während der Flugzeiten nicht sinnvoll.

B. Ergebnisse

Die folgenden Ergebnisse sind alle tabellarisch, zum Teil auch graphisch dargestellt und soweit erforderlich auch statistisch belegt. Die dabei verwendeten statistischen Methoden sind dem Lehrbuch von WEBER (1972) entnommen.

a) in vitro-Versuche

Versuch I:

In Anbetracht der drei verschiedenen Amproliumkonzentrationen kann im Vergleich zur positiven Kontrolle kein einseitig verstärkter Totenfall festgestellt werden. Wenn auch in der Testgruppe 1 gegen Ende des Versuches (17. Tag) soviel Tote anfallen wie in den Gruppen 2, 3 und der positiven Kontrolle zusammen, so bleibt doch der Bienenausfall bei Gruppe 1 bis zum 11. Tag auf ein Minimum beschränkt. Die Sporenwerte sind erst ab 12. Tag miteinander vergleichbar, da sie vorher zu großen Variationen unterworfen sind. Von diesem Zeitpunkt an aber bis Versuchsende ist eine große Abweichung der Sporenzahl der Gruppen 1, 2 und 3 gegenüber K (+) nicht feststellbar (vgl. Tab. I).

Die statistische Erfassung der Werte aus Versuch I:

Die Sporenmittelwerte vom 12. - 18. Versuchstag wurden pro Versuchsgruppe ermittelt und in der Varianzanalyse gegenübergestellt.

$$F_{\text{ber.}} = 2,20 < F_5 \%; 3,23 = 3,03 \quad \text{das heißt}$$

zwischen den Gruppen mit verschiedenen Amproliumkonzentrationen und der positiven Kontrolle besteht kein Unterschied (bei 5 % Irrtumswahrscheinlichkeit).

Versuchsdauer in Tagen	SPORENZAHL in 10.000/ml Testgruppen				
	1	2	3	K (+)	K (-)
1. Tag	Infektion				
5	16	12	8	20	0
6	9	12	10	6	0
7	20	10	4	10	0
8	8	9	15	30	0
9	30	21	14	42	0
10	26	9	25	30	0
11	45	9	45	20	0
12	75	58	55	45	0
13	30	55	50	47	0
14	45	55	40	67	0
15	36	44	50	55	0
16	59	66	45	53	0
17	45	84	52	63	0
18	30		45	59	0
Gesamttotenfall	16	17	16	16	6

Tabelle I: Die Wirkung verschiedener Amproliumkonzentrationen auf *Nosema apis*, dargestellt anhand der Gesamtsporenzahl und des Totenfalls innerhalb der Versuchsgruppen (Versuch I)

Testgruppe 1 = 0,15 g Amprolium / 1 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 2 = 1,5 g Amprolium / 1 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 3 = 15 g Amprolium / 1 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Kontrollgruppe K (+) = infiziert, ohne Medikament
 Kontrollgruppe K (-) = nicht infiziert, ohne Medikament
 Therapiebeginn am 5. Tag

Versuch II:

Schon ab 5. Versuchstag zeigt sich bei Gruppe 2 und 3 im Vergleich zu Gruppe 1 und K (+) ein erheblich stärkerer Totenfall. Bei der Testgruppe 3 sind ab 10. Versuchstag deshalb keine Bienen zur weiteren Untersuchung mehr vorhanden. Durch den frühen Ausfall dieser Gruppe ist ein Vergleich der Sporenzahlen nur noch zwischen Gruppe 1, 2 und K (+) ab 10. Tag möglich. Von diesem Zeitpunkt an verringert sich die Sporenzahl in Gruppe 1 sehr stark, während Gruppe 2 gegenüber K (+) stärker verspart zu sein scheint (vgl. Tab. II).

Statistische Erfassung der Werte aus Versuch II:

Ab dem 10. Versuchstag wurden die Sporenzahlmittelwerte der Testgruppen 1, 2 und K (+) ermittelt und in der Varianzanalyse untereinander verglichen.

Varianzanalyse bei Versuch II

Variationsursache	SQ	FG	MQ
zwischen den Behandlungen	2175,2	2	1087,6
innerhalb der Behandlungen	378,5	9	42,1
total	2553,7	11	232,2

$$F = 25,86 > F_{1\%} = 8,02$$

Test der Mittelwerte

Hypothese	Signifikanz
Gruppe 1 = K (+)	Signifikanter Unterschied mit 1 % Irrtumswahrscheinlichkeit
Gruppe 2 = K (+)	kein Unterschied
Gruppe 1 = Gruppe 2	signifikanter Unterschied mit 1 % Irrtumswahrscheinlichkeit

Zeichenerklärung: SQ = Summen von Abweichquadraten
FG = Freiheitsgrade
MQ = mittlere Abweichquadrate oder Varianten

Versuchsdauer in Tagen	1	SPORENZAHL in 10.000/ml			TOTENFALL		
		2	Testgruppen		3	Testgruppen	
			K (+)	K (-)	1	2	K (+) K (-)
1. Tag	Infektion						
5	14	19	12	9	0	1	2 3
6	15	21	4	21	0	2	5 6 2
7	31	26	24	27	0	2	2 2
8	15	22	27	28	1	2	4 1 1
9	19	29	21	24	0	1	10 2
10	11	31		32	0	3	3 2
11	7	37		30	0	2	3 1
12	8	30		38	0	2	1
13	3	52		35	0	1	1

Tabelle II: Die Wirkung zweier Eleudronkonzentrationen auf Nosema apis im Vergleich zu Fumidil B, dargestellt anhand der Gesamtsporenzahl und des Totenfalles innerhalb der Versuchsgruppen (Versuch II)

Testgruppe 1 = 1 g Fumidil B / 1 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 2 = 7,5 ml Eleudron / 1/2 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 3 = 7,5 ml Eleudron / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Kontrollgruppe K (+) = infiziert, ohne Medikament
 Kontrollgruppe K (-) = nicht infiziert, ohne Medikament

Therapiebeginn am 5. Tag

Versuch III:

Bei den zu dieser Zeit (Ende Juli 1971) herrschenden hohen Außentemperaturen versagte die Regulation des Thermostaten, wodurch die Bienen offensichtlich einer zu großen Belastung ausgesetzt waren.

Durch den anfänglich raschen Totenfall kann der Versuch zu einer Aussage nicht herangezogen werden, da mit dieser Versuchsanordnung eine solche erst ab 12. bis 13. Tag möglich ist, die Bienen aber bereits am 11. Tag alle eingegangen waren (vgl. Tab. III).

Versuch IV:

Die kurze Versuchsdauer erklärt sich dadurch, daß diese Testreihe unter annähernd gleichen Bedingungen durchgeführt werden mußte wie Versuch III.

Nur die mit Amprolvet Super und Darvisul-T behandelten Bienen können zu einer Auswertung herangezogen werden. Die Testgruppe 5 weist ab 12. Versuchstag, die 2. Gruppe ab 13. eine höhere Sporenzahl als K (+) auf (vgl. Tab. IV, S. 43).

Versuchs- dauer in Tagen	SPORENZAHL in 10.000/ml										TOTENFALL						
	Testgruppen										Testgruppen						
	1	2	3	4	5	4	5	K (+)	K (-)	1	2	3	4	5	K (+)	K (-)	
1. Tag	Infektion																
5	8	4	4	6	4	4	4	4	0	2	4		4	1	2		
6	2	15	11	9	4	3	0	0	0	5	11	7	14	14	1		
7	5	4	12	15	9	14	0	0	0	5	3	11	2	6	5		
8	3	7	11	10	8	17	0	0	0	5	3	4	5	4	4		
9	11	9	15	8	7	11	0	0	0	7	2	1			1		
10		10	11			15	0	0	0	1		1			1		
11		27				25	0	0	0						2		
12																	
13																	

Tabelle III: Die Wirkung von Amprolvet Super, Theracanzan, Esb₃ und Darvisul-T auf Nosema apis im Vergleich zu Fumidil B, dargestellt anhand der Gesamtsporenzahl und des Totenfalles innerhalb der Versuchsgruppen (Versuch III)

Testgruppe 1 = 1 g Fumidil B / 1 ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 2 = 1 ml Amprolvet Super / 1 ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 3 = 1 ml Theracanzan / 1/4 ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 4 = 500 mg Esb₃ / 1/4 ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 5 = 1,5 ml Darvisul-T / 1/4 ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Kontrollgruppe K (+) = infiziert, ohne Medikament
 Kontrollgruppe K (-) = nicht infiziert, ohne Medikament

Therapiebeginn am 5. Tag

Versuchs- dauer in Tagen	SPORENZAHL in 10.000/ml					TOTENFALL					K (-)	K (+)	K (-)
	1	2	3	4	5	Testgruppen							
1. Tag	Infektion												
5	10	13	7	12	12	21	0	2	3	3		2	2
6	15	11	11	11	13	16	0	3		1	1	3	1
7	10	10	15	25	11	12	0	3		2	1	2	1
8	9	16	10	19	26	11	0	7	1	10	8	2	2
9													
10	5	23	9	13	12	16	0	10	9	9	15	15	6
11													
12		12			27	15	0		9				11
13		24				14	0						
14		25											

Tabelle IV: Die Wirkung von Amprolvet Super, Theracanzan, Darvisul-T, Eleudron auf Nosema apis im Vergleich zu Fumidil B, dargestellt anhand der Gesamtsporenzahl und des Totenfalles innerhalb der Versuchsgruppen (Versuch IV)

Testgruppe 1 = 250 mg Fumidil B / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 2 = 1 ml Amprolvet Super / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 3 = 1 ml Theracanzan / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 4 = 1 ml Darvisul-T / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 5 = 1 ml Eleudron / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Kontrollgruppe K (+) = infiziert, ohne Medikament
 Kontrollgruppe K (-) = nicht infiziert, ohne Medikament

Therapiebeginn am 5. Tag

Versuch V:

Der Totenfall zwischen dem 5. und 7. Versuchstag ist in allen beteiligten Testgruppen annähernd gleich. Zwischen dem 10. und 12. Tag ist aber der Bienenausfall bei Gruppe 3 so stark, daß sie im weiteren nicht mehr erscheint. Ab 10. Versuchstag geht nur bei Gruppe 1 und 4 die Sporenzahl annähernd gleichstark zurück, während sich die von Gruppe 2 und 5 von K (+) nicht auffällig unterscheidet (vgl. Tab. V und Graph. Darst. 1).

Statistische Erfassung der Werte aus Versuch V

Ab dem 10. Versuchstag wurden die Sporenzahlmittelwerte der Testgruppen 1, 2, 4, 5 und K (+) ermittelt und in der Varianzanalyse miteinander verglichen.

Varianzanalyse bei Versuch V

Variationsursache	SQ	FG	MQ
zwischen den Behandlungen	2737,6	4	684,4
innerhalb der Behandlungen	615,83	24	25,7
total	3353,5	28	119,8

$$F = 26,67 > F_{1\%} = 4,22$$

Test der Mittelwertsunterschiede

Hypothese	Signifikanz
Gruppe 1 = Gruppe 4	kein Unterschied
Gruppe 2 = Gruppe 5 = K (+)	kein Unterschied
$\frac{\text{Gruppe 1} + \text{Gruppe 4}}{2} =$ $= \frac{\text{Gruppe 2} + \text{Gruppe 5} + \text{K} (+)}{3}$	signifikanter Unterschied mit 1 % Irrtumswahrscheinlichkeit

Zeichenerklärung: SQ = Summen von Abweichquadraten
 FG = Freiheitsgrade
 MQ = mittlere Abweichquadrate oder Varianten

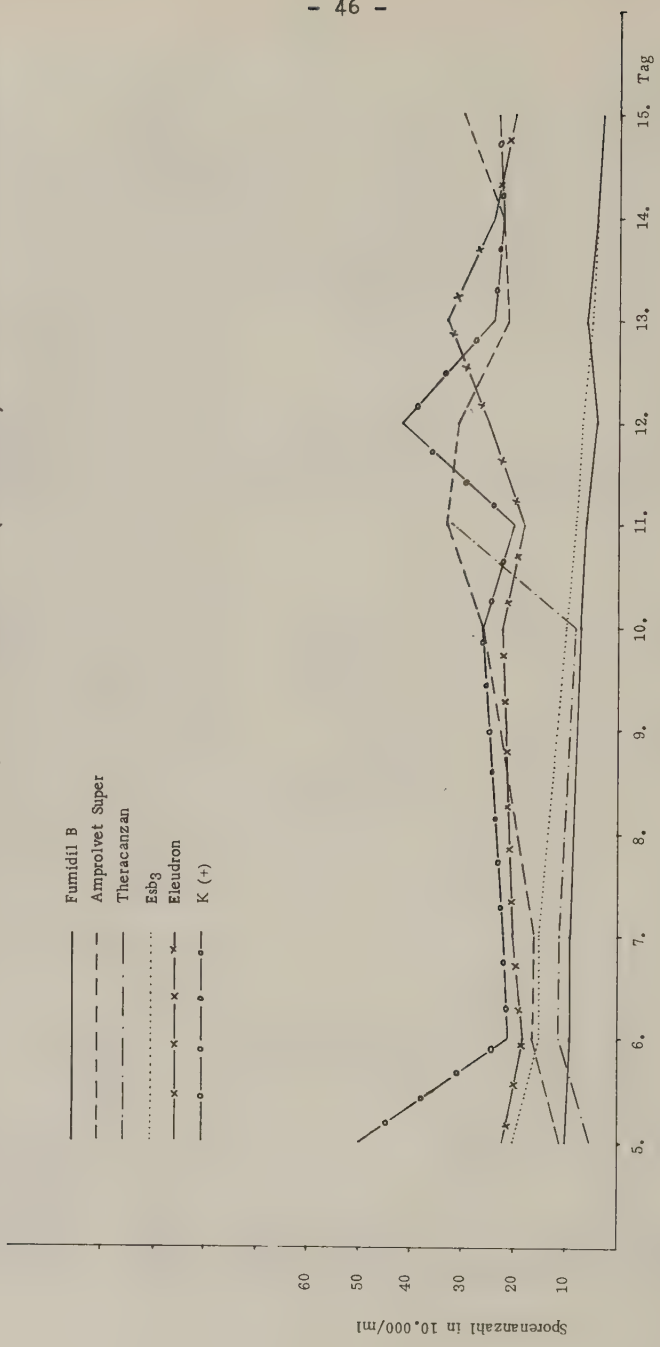
Versuchs- dauer in Tagen	SPORENZAHL in 10.000/ml					TOTENFALL								
	1	2	3	4	5	K (+)	K (-)	1	2	3	4	5	K (+)	K (-)
1. Tag	Infektion													
5	10	11	5	20	22	50	0	1	2	3			3	
6	9	16	11	15	18	21	0	2	1	1	3	2	1	
7	9	16	12	15	20	22	0	1	1	2	1	1	2	
8														
9														
10	7	26	8	10	22	26	0	10	7	10	9	3	3	
11	6	33	32	8	18	20	0			3	3	2	1	
12	4	31		7	25	42	0	3	3	6	2	6		
13	6	21		5	33	24	0	1	3		1	2	1	
14	4	22		4	24	22	0	1			3	2		
15	3	30			20	23	0	1	3		2	2	2	
16								1	1	1	1	1	1	

Tabelle V: Die Wirkung von Amprolvet Super, Theracanzan, Esb₃ und Eleudron auf Nosema apis im Vergleich zu Fumidil B, dargestellt anhand der Gesamtsporenzahl und des Totenfalles innerhalb der Versuchsgruppen (Versuch V)

Testgruppe 1 = 250 mg Fumidil B / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 2 = 1 ml Amprolvet Super / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 3 = 1 ml Theracanzan / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 4 = 500 mg Esb₃ / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 5 = 1 ml Eleudron / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Kontrollgruppe K (+) = infiziert, ohne Medikament
 Kontrollgruppe K (-) = nicht infiziert, ohne Medikament

Therapiebeginn am 5. Tag

Graphische Darstellung 1: Die Wirkung von Amprovet super, Theracanzan und Esb₃ auf Nosema apis im Vergleich zu Fumidil B (Versuch V)



Versuch VI:

Durch den gleichmäßig verteilten geringen Totenfall bei allen Testgruppen ist dieser Versuch für alle beteiligten Gruppen ähnlich ausgegangen.

Ab 8. Versuchstag zeigen nur Gruppe 1 und Gruppe 4 eine abnehmende Tendenz ihrer Sporenwerte, wobei sie am 12. Versuchstag annähernd gleich sind. Am gleichen Tag stehen die Werte von Gruppe 2 und Gruppe 3 sogar über denen der Gruppe K (+), am 13. Tag sind sie etwas geringer (vgl. Tab. VI und Graph. Darst. 2).

Statistische Erfassung der Werte aus Versuch VI

Die Sporenzahlmittelwerte vom 8. Versuchstag bis Versuchsende wurden von den Testgruppen 1, 2, 3, 4 und K (+) ermittelt und der Varianzanalyse unterworfen.

Varianzanalyse bei Versuch VI

Variationsursache	SQ	FG	MQ
zwischen den Behandlungen	17443,5	4	4361
innerhalb der Behandlungen	6707,1	19	353
total	24150,6	23	1050

$$F = 12,35 > F_{1\%} = 4,50$$

Test der Mittelwertunterschiede

Hypothese	Signifikanz
Gruppe 1 = Gruppe 4	kein Unterschied
Gruppe 2 = K (+)	kein Unterschied
Gruppe 3 = K (+)	kein Unterschied
<u>Gruppe 1 + Gruppe 4</u> 2	signifikanter Unterschied mit
= <u>Gruppe 2 + Gruppe 3 + K (+)</u> 3	1 % Irrtumswahrscheinlichkeit

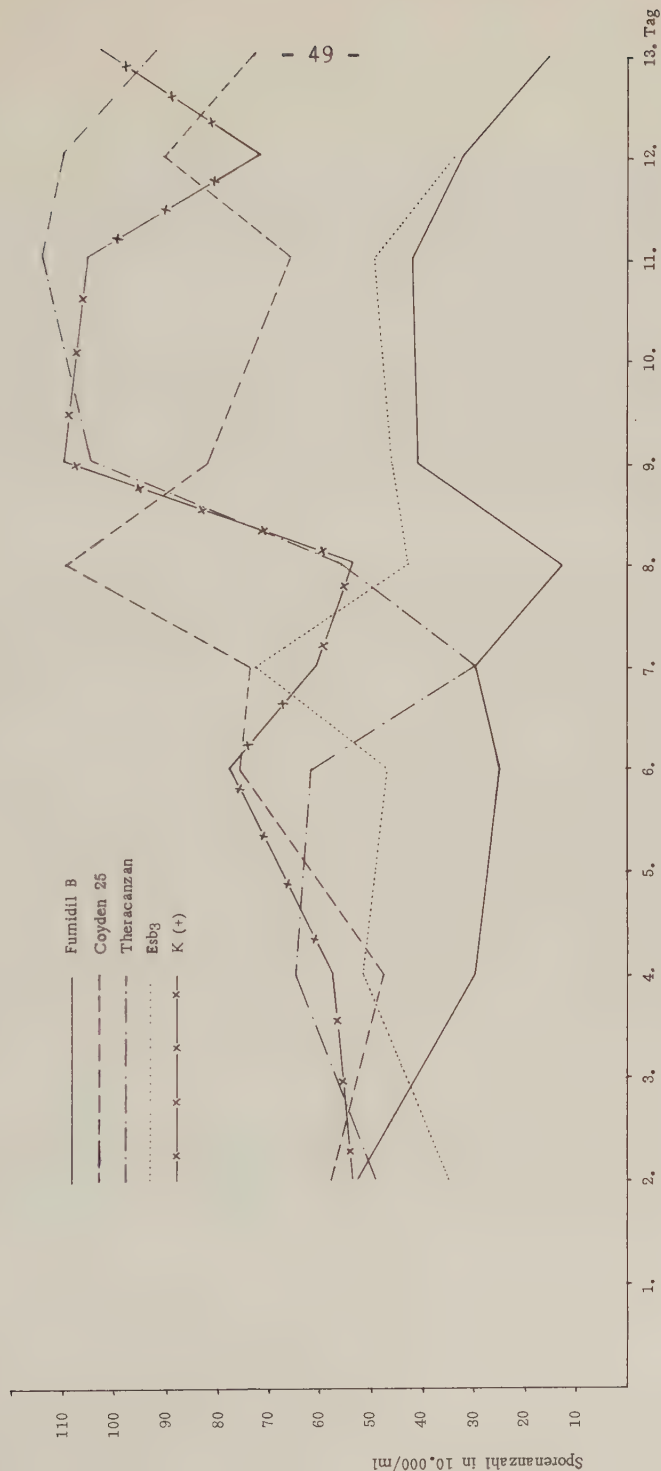
Zeichenerklärung: SQ = Summen von Abweichquadraten
 FG = Freiheitsgrade
 MQ = mittlere Abweichquadrate oder Varianten

Versuchs- dauer in Tagen	SPORENZAHL in 10.000/ml Testgruppen						TOTENFALL Testgruppen					
	1	2	3	4	K (+)	K (-)	1	2	3	4	K (+)	K (-)
1. Tag	Beginn der Therapie											
2	53	58	49	35	54	0	4		4			2
3												
4	30	48	65	52	58	0		4	7	3		6
5												
6	25	76	62	47	78	0	7	4	6	7		16
7	30	74	30	73	61	0	2	3	1	3		1
8	13	110	56	43	54	0	1	3	1	6		1
9	41	82	105	46	110	0	3	9	8	10		2
10												
11	42	66	114	50	105	0	3	3	1	3		2
12	32	91	110	34	72	0	2		2			
13	15	73	92		103	0		2	2			
14								4				

Tabelle VI: Die Wirkung von Coyden 25, Theracacanzan und Esb₃ auf Nosema apis im Vergleich zu Fumidil B, dargestellt anhand der Gesamtsporenzahl und des Totenfalles innerhalb der Versuchsgruppen (Versuch VI)

Testgruppe 1 = 250 mg Fumidil B / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 2 = 500 mg Coyden 25 / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 3 = 1 ml Theracacanzan / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 4 = 500 mg Esb₃ / 1/4 Ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Kontrollgruppe K (+) = infiziert, ohne Medikament
 Kontrollgruppe K (-) = nicht infiziert, ohne Medikament

Graphische Darstellung 2: Die Wirkung von Coyden 25, Theracanzan und Eab₃ auf *Nosema apis* im Vergleich zu Fumidil B (Versuch VI)



Versuch VII:

Dem starken Totenfall zwischen 1. und 6. Versuchstag bei Gruppe 1, 3 und 4 steht ein ausgewogener und geringerer ab 8. Tag bis Versuchsende bei fast allen Gruppen gegenüber. Gruppe 4 ist ab dem 12. Tag ausgestorben.

Ab 8. Versuchstag ist ein Sporenzahlvergleich der verschiedenen Gruppen möglich. Ab 12. Tag zeigt sich eine Sporenverringernng bei Gruppe 1 und Gruppe 3 gegenüber Gruppe 2 und Gruppe K (+), die so weit geht, daß gegen Ende des Versuches die Gruppen 1 und 3 annähernd halb soviel Sporen aufweisen wie die Gruppen 2 und K (+) (vgl. Tab. VII, S. 53 und Graph. Darst. 3, S. 54).

Statistische Erfassung der Werte aus Versuch VII

Vom 8. Versuchstag an bis Versuchsende wurden die Sporenzahlmittelwerte der Testgruppen 1, 2, 3 und K (+) ermittelt und darüber eine Varianzanalyse angestellt.

Varianzanalyse bei Versuch VII

Variationsursache	SQ	FG	MQ
zwischen den Behandlungen	30714,7	3	10238,2
innerhalb der Behandlungen	12385,3	24	516,0
total	43100,0	27	1596,3

$$F = 19,84 > F_{1\%} = 4,72$$

Zeichenerklärung: SQ = Summen von Abweichquadraten
FG = Freiheitsgrade
MQ = mittlere Abweichqudrate oder Varianten

Test der Mittelwertsunterschiede

Hypothese	Signifikanz
Gruppe 1 = Gruppe 3	kein Unterschied
Gruppe 2 = K (+)	bei 1 % Fehlerquote kein Unterschied
$\frac{\text{Gruppe 1} + \text{Gruppe 3}}{2} = \text{Gruppe 2}$	bei 1 % Fehlerquote signifikanter Unterschied
$\frac{\text{Gruppe 1} + \text{Gruppe 3}}{2} = K (+)$	bei 1 % Fehlerquote signifikanter Unterschied

Versuch VIII:

Aus der hohen Ausgangsinfektion ergibt sich ein starker Totenfall am 4. Versuchstag. Zwischen dem 8. und 11. Versuchstag herrscht noch einmal auffallend hoher Bienenverlust bei allen Gruppen, der bei Gruppe 5 zum vorzeitigen Versuchsende führt.

Obwohl am 8. Versuchstag die Sporenzahlsummen aus Kotblase und Mitteldarm der Gruppen 1, 4 und K (+) annähernd das gleiche Niveau erreicht haben, zeigt sich bei der Differenzierung von Kotblasen- und Mitteldarmwerten bei Gruppe 1, daß die Sporenzahl der Kotblase fast neunmal so hoch ist wie die des Mitteldarmes. Bei den übrigen Gruppen ist die Summe dagegen annähernd aus gleichen Summanden zusammengesetzt. Bei Versuchsende ist eine Sporenzahlabnahme nur bei Gruppe 1 und 3 zu verzeichnen. So hat bei Gruppe 1 am 15. Versuchstag die Kotblase fünfmal soviel Sporen wie der Mitteldarm, während bei Gruppe 3 der Mitteldarm annähernd um die Hälfte mehr Sporen hat als die Kotblase (vgl. Tab. VIII, S. 55 und Graph. Darst. 4 - 8, S. 56 - 58).

Statistische Erfassung der Werte aus Versuch VIII

Ab dem 8. Versuchstag bis Versuchsende wurden bei den Testgruppen 1, 2, 3, 5 und K (+) die Sporenzahlmittelwerte bestimmt und der Varianzanalyse unterzogen.

Varianzanalyse bei Versuch VIII

Variationsursache	SQ	FG	MQ
zwischen den Behandlungen	88393,4	4	22098,3
innerhalb der Behandlungen	49118,1	25	1964,7
total	137511,5	29	4741,8

$$F = 11,25 > F_{1\%} = 4,18$$

Test der Mittelwertsunterschiede

Hypothese	Signifikanz
Gruppe 1 = Gruppe 3	kein Unterschied
Gruppe 2 = Gruppe 5 = K (+)	kein Unterschied
$\frac{\text{Gruppe 1} + \text{Gruppe 3}}{2} =$	signifikanter Unterschied mit 1 % Irrtumswahrscheinlichkeit
$= \frac{\text{Gruppe 2} + \text{Gruppe 5} + K (+)}{3}$	

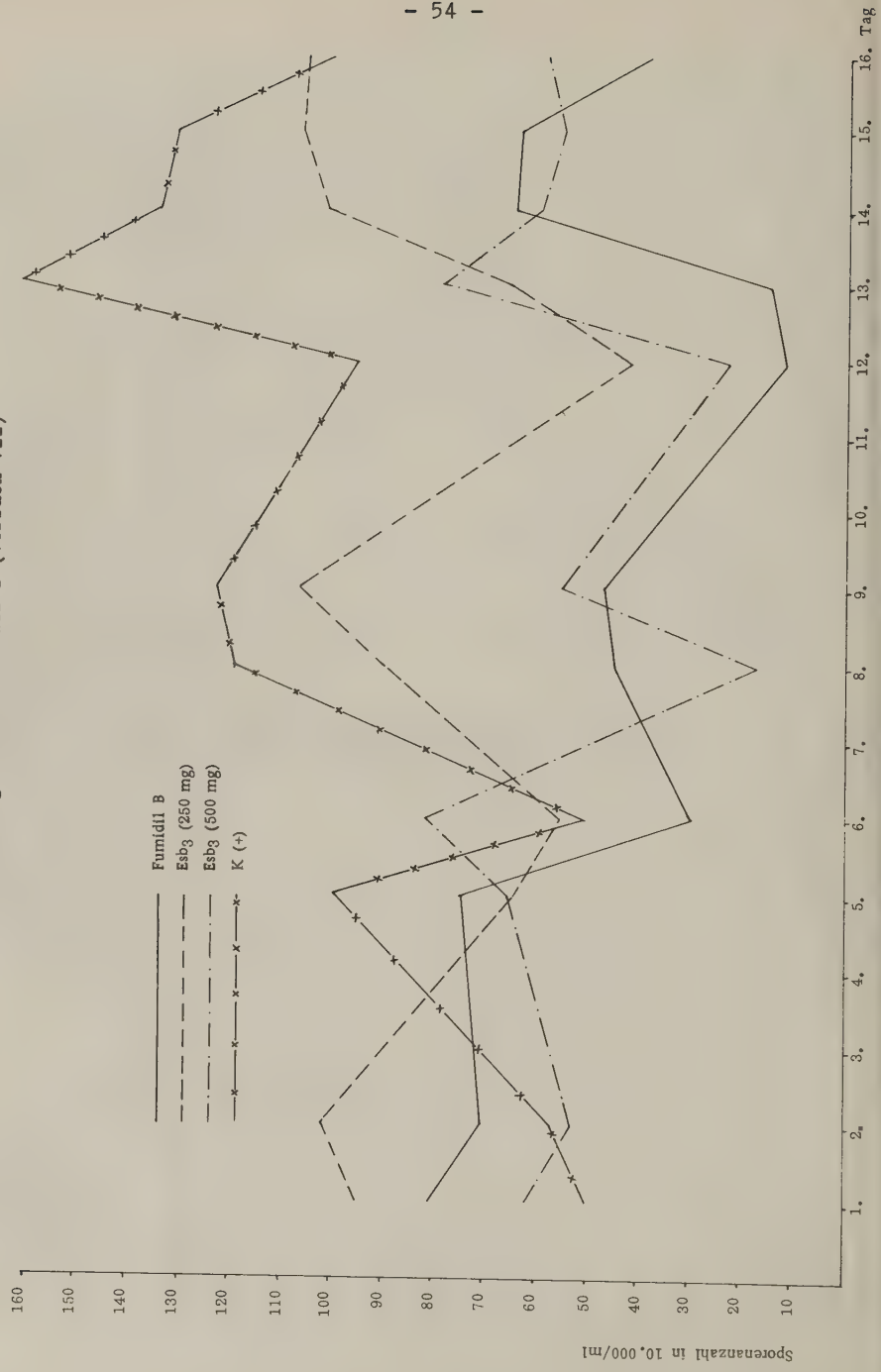
Zeichenerklärung: SQ = Summen von Abweichquadraten
 FG = Freiheitsgrade
 MQ = mittlere Abweichquadrate oder Varianten

Versuchs- dauer in Tagen	SPORENZAHL in 10.000/ml Testgruppen						TOTENFALL Testgruppen					
	1	2	3	4	K (+)	K (-)	1	2	3	4	K (+)	K (-)
1. Tag	81	95	62	73	50	0						
2	71	102	53	85	57	0	10	2	1	3	1	
3												
4												
5	75	65	66	52	100	0	2	3	15	20	4	
6	30	56	82	85	51	0	1	3	2	6		
7												
8	45	91	17	36	120	0	3	1	7	5	5	
9	47	107	55	53	123	0		2		1	3	
10												
11												
12	12	42	23		96	0	3	8		2	6	
13	15	66	79		162	0		2			2	
14	65	102	60		135	0		2	2		1	
15	64	107	56		132	0			1		1	
16	39	106	59		101	0		2	1		2	

Tabelle VII: Die Wirkung verschiedener Esb₃-Konzentrationen auf Nosema apis im Vergleich zu Fumidil B, dargestellt anhand der Gesamtsporenzahl und des Totenfalles innerhalb der Versuchsgruppen (Versuch VII)

Testgruppe 1 = 250 mg Fumidil B / 1/4 ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 2 = 250 mg Esb₃ / 1/4 ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 3 = 500 mg Esb₃ / 1/4 ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 4 = 1 g Esb₃ / 1/4 ltr. 50 %ige Zuckerlösung
 Kontrollgruppe K (+) = infiziert, ohne Medikament
 Kontrollgruppe K (-) = nicht infiziert, ohne Medikament

Graphische Darstellung 3: Die Wirkung verschiedener Esb₃-Konzentrationen auf Nosema apis im Vergleich zu Fumidil B (Versuch VII)



Versuchs-
dauer in
Tagen

SPORENZAHL in 10.000/ml

Testgruppen

TOTENFALL
Testgruppen

1 2 3 4 5 K (+) K (-) K (+) K (-) K (+) K (-)

4. Tag	25	30	49	52	47	65	27	69	78	79	80	88	0	5	15	12	25	5	11
5	104	30	92	78	53	60	132	74	82	55	50	74	0	2	2	5	4	4	2
6	78	25	88	85	89	95	17	54			36	56	0		1	3	7	2	2
8	129	14	87	45	49	51	62	42	130	81	52	66	0		10	8	6	6	2
11	79	6	99	31	83	75			158	82	104	58	0	8	1	4		2	7
12	98	5	32	56	45	44			142	66	143	93	0		1			5	1
13	63	6	70	51	24	63			65	70	145	78	0	1	1	1		2	1
14	38	6	72	85	21	45					121	66	0	3	1			1	1
15	15	3	157	59	19	27					135	72	0	2				1	1
18	45	3							225	62	156	54	0	1				2	2

Tabelle VIII: Die Wirkung von Theracanzan, Esb₃, Whitsyn-S und Sulfanilamidum purum auf Nosema apis im Vergleich zu Fumidil B, dargestellt anhand der Sporenzahl des Mitteldarmes und der Kotblase sowie des Totenfalles innerhalb der Versuchsgruppen (Versuch VIII)

Testgruppe 1 = 250 mg Fumidil B / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 2 = 1 ml Theracanzan / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 3 = 500 mg Esb₃ / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 4 = 0,7 ml Whitsyn-S / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Testgruppe 5 = 200 mg Sulfan. purum / 1/4 Itr. 50 %ige Zuckerlösung
 Kontrollgruppe K (+) = infiziert, ohne Medikament
 Kontrollgruppe K (-) = nicht infiziert, ohne Medikament

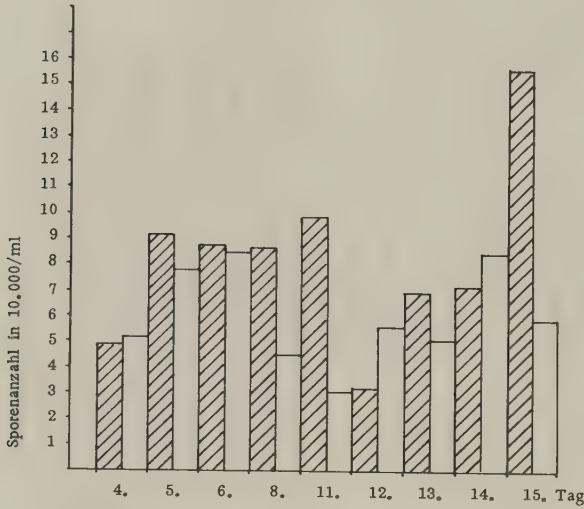
Zeichenerklärung: K = Kotblase
 M = Mitteldarm

Graphische Darstellungen 4-8:

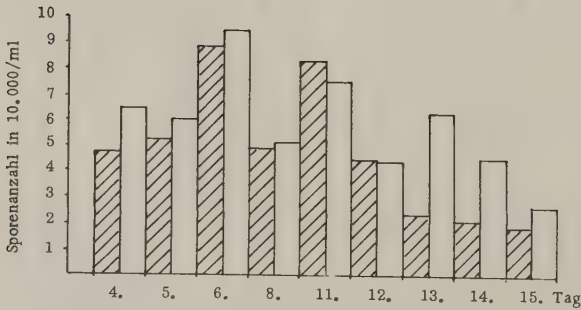
Die Wirkung von Theracanzan, Esb₃ und Sulfanilamidum purum im Vergleich zu Fumidil B auf *Nosema apis* unter Berücksichtigung der Verteilung der Sporen auf Kotblase und Mitteldarm (Versuch VIII)

Zeichenerklärung:

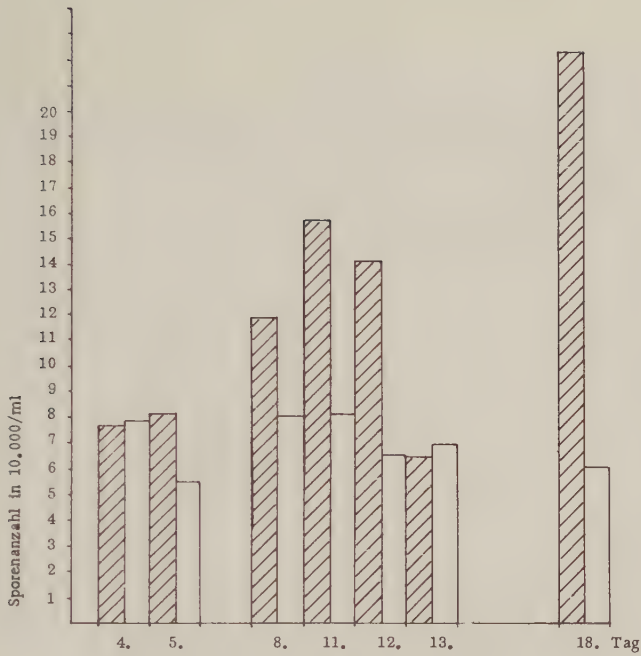
 Kotblase
 Mitteldarm



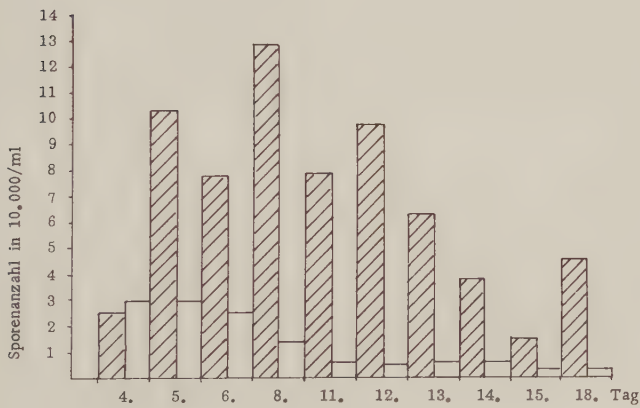
Graphische Darstellung 4: betrifft Theracanzan



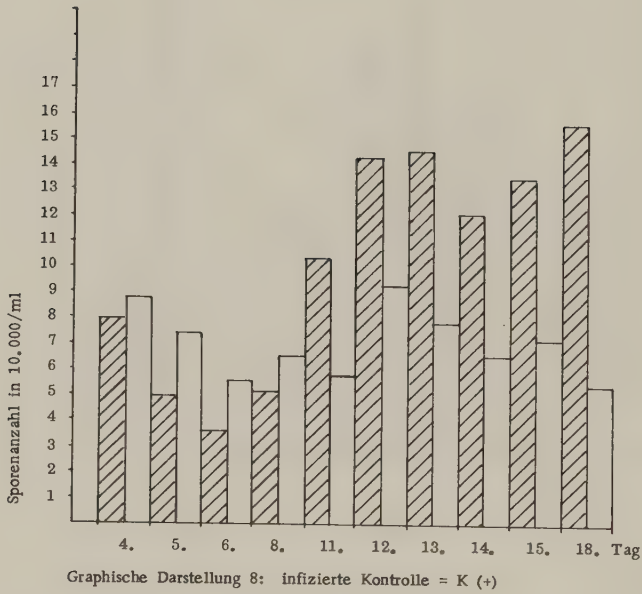
Graphische Darstellung 5: betrifft Esb₃



Graphische Darstellung 6: betrifft Sulfanilamidum purum



Graphische Darstellung 7: betrifft Fumidil B



b) Feldversuche

Feldversuch A

Infolge des kalten und regnerischen Frühjahrswetters waren nur zeitlich begrenzte Reinigungsflüge möglich. Daher konnten die Bienen nur unzulänglich ihre Kotblasen entleeren. Die meiste Zeit mußten die 3 Völker in einem beheizten Raum bei ca. 20° C gehalten werden. Am 24.4. wurden sie in einem Gewächshaus aufgestellt, um durch den nunmehr gesicherten Reinigungsflug die Lebensdauer der Bienen und damit den Versuchszeitraum verlängern zu können. Das mit Fumidil B behandelte Volk brach innerhalb weniger Stunden vollkommen zusammen, während von den Esb₃- sowie den K (+)-Völkern faustgroße Bientrauben übrigblieben und weitere Versporungswerte lieferten. Die Königinnen, die während dieser Phase starben, hatten während der Versuchszeit kein Brutnest angelegt. Die Sporenzahl der Esb₃-Gruppe verringert sich gegenüber der Gruppe K (+) ab 24.4. Bei Versuchsende weist sie nur die Hälfte der Sporensomme aus Kotblase und Mitteldarm im Vergleich zu Gruppe K (+) auf, wobei eine Differenzierung der Summanden den Schluß zuläßt, daß die Kotblasen sowohl bei Esb₃ als auch bei K (+) um fast die Hälfte weniger Sporen aufweisen als die entsprechenden Mitteldärme.

Tag	Fumidil B			Esb ₃			K (+)		
	K	M	Sporen insges.	K	M	Sporen insges.	K	M	Sporen insges.
14.4.	36	44	80	39	44	83	33	45	78
23.4.	41	27	68	45	46	91	46	80	126
24.4.	Versuchsvolk			12	44	56	74	64	138
27.4.	ausgestorben			19	49	68	42	72	114

Tabelle IX: Die Wirkung von Esb₃ im Vergleich zu Fumidil B bei freifliegenden Völkern (Feldversuch A), ausgedrückt durch die Sporenzahl in 10.000/ml in Kotblase (K) und Mitteldarm (M).

Feldversuch B

Bei der anfänglich guten Witterung wuchsen die Völker rasch an. Besonders das Volk Esb_3-2 zeichnete sich durch intensiven Wabenbau an den Glasscheiben des Einwabenkastens aus. Die Königin des Volkes K (+)-1 war als einzige nicht in der Lage, ein Brutnest anzulegen.

Neben der Höhe der Sporenzahlen (Tab. X) ist auch der Zeitpunkt des Königinnensterbens von Bedeutung. Dieser gibt Aufschluß über die Widerstandskraft, die dem Bienenorganismus durch den Einfluß des Medikaments verliehen wird. So zeigt sich, daß die Königinnen der infizierten Kontrollvölker schon sehr früh verstarben, die Testvölker Esb_3-2 und Fu 1 aber ihre Königinnen bis fast zum Versuchsende halten konnten.

Es starben

am 29. Mai 1972	Königin von K (+) 1
am 3. Juni 1972	Königin von Esb_3 1
am 5. Juni 1972	Königin von K (+) 2
am 19. Juni 1972	Königin von Fu 2
am 22. Juni 1972	Königin von Esb_3 2
am 24. Juni 1972	Königin von Fu 1

Zwischen 6.6. und 13.6. wurden die unter Fumidil B gehaltenen Völker nosemafrei, während bei den Esb_3 -Völkern die Sporenzahl im Vergleich zur positiven Kontrolle erst ab dem 19.6. zurückging. Gegen Versuchsende ist die Sporenzahl von Esb_3-1 gegenüber K (+)-1 und K (+)-2 nur noch annähernd halb so groß. Esb_3-2 aber wird nahezu sporenfrei (vgl. Tab. X).

Statistische Erfassung der Werte aus dem Feldversuch B:

Ab 19.6.1972 bis Versuchsende wurden die Esb_3 -Gruppen einerseits und die K (+)-Gruppen andererseits in ihren Sporenzahlmittelwerten erfaßt und die zwei gewonnenen Werte im t-Test gegenübergestellt:

$$t = 4,32 > t_1 \%; 18 = 2,88$$

das heißt: zwischen den Esb_3 -Gruppen und den K (+)-Gruppen besteht bei 1 % Irrtumswahrscheinlichkeit ein signifikanter Unterschied.

Datum	Fu 1	Fu 2	Esb ₃ 1	Esb ₃ 2	K (+) 1	K (+) 2
26. 5.	44	43	19	43	21	29
5. 6.	31	2	29	19	13	12
6. 6.	2	0	31	60	9	4
8. 6.	31	0	32	46	4	28
13. 6.	0	0	71	61	11	24
15. 6.	0	0	54	33	14	16
19. 6.	0	0	48	27	44	49
21. 6.	0	0	38	23	37	40
26. 6.	0	0	26	7	39	48
27. 6.	0	0	24	2	44	43
28. 6.	0	0	26	3	46	43

Tabelle X: Die Wirkung von Esb₃ gegen Nosema apis im Vergleich zu Fumidil B bei freifliegenden Völkern (Feldversuch B), ausgedrückt durch die Sporenzahl in 10.000/ml (Therapiebeginn am 26.5.1972).

Fu 1 / Fu 2 = Testvölker mit Fumidil B behandelt
 Esb₃ 1 / Esb₃ 2 = Testvölker mit Esb₃ behandelt
 K (+) 1 / K (+) 2 = infizierte Kontrollvölker

IV. DISKUSSION

Da Fumidil B heute das Nosemacidum der Wahl ist (BÖTTCHER et al. 1964; VORWOHL 1965; BRETSCHKO 1967), wurde es den zu testenden Coccidiostatica zum Vergleich gegenübergestellt, wie es schon FRITZSCH (1970) in seinen Versuchsanordnungen zeigte. Die ausgezeichnete Wirkung dieses Mittels hat sich auch hier in allen Versuchen bestätigt. Gegenüber dessen hoher nosemacider Wirkung ergab sich, daß Amprolium *Nosema apis* nicht beeinflußt, wie es auch schon MOFFETT et al. (1969) darstellten. Neben diesem wurden Amprolvet Super, Eleudron, Theracanzan und Darvisul-T in fünf Versuchen mit quantitativer Infektion und einem Therapiebeginn 4 Tage p.i. ohne Erfolg gegeben, während Esb₃ hier schon einen nosemaciden Effekt erkennen läßt.

Um praxisähnliche Verhältnisse zu schaffen, sind die Bienen in den Versuchen VI bis VIII einer qualitativen Infektion mit Nosemasporen ausgesetzt worden. Nachdem sich zwei Wochen später eine gleichmäßige Verparasitierung ergeben hatte, kamen neben Fumidil B und Esb₃ auch Coyden 25, Theracanzan, Whitsyn-S sowie Sulfanilamidum purum zum Einsatz. Auch hier bestätigte sich, daß allein die beiden erstgenannten Medikamente eine therapeutische Wirkung zeigten.

Lediglich in den Versuchen I bis V kann für Amprolvet Super, Eleudron und Darvisul-T einschränkend geltend gemacht werden, daß der Einsatz der Medikamente (4. Tag p.i.) zu spät gekommen sei, um entsprechende Entwicklungsstadien von *Nosema apis* anzugreifen, was einer genaueren Überprüfung bedarf. In den Versuchen VI, VII und VIII dagegen ist damit nicht mehr zu rechnen, da sich dort die Infektionsabläufe schon weitgehend überschneiden dürften.

Bei einigen Mitteln - insbesondere bei Eleudron und Darvisul-T - konnte überdies beobachtet werden, daß der Totenfall mitunter höher lag als in den infizierten Kontrollen. Ob das auf einen bienentoxischen Effekt der geprüften Medikamente schließen läßt, kann dabei nur vermutet werden.

Das einzige Coccidiostaticum also, das eine nosemahemmende Wirkung

zeigte und in einigen Versuchen dem Fumidil B gleichkam, ist Esb₃, wobei die Statistik der in vitro-Versuche V, VI, VII und VIII ergibt, daß zwischen Fumidil B und Esb₃ aufgrund der gewonnenen Sporenwerte kein Unterschied besteht. Weitere Gemeinsamkeiten dieser beiden Medikamente, aber auch deren Unterschiede sollen deshalb näher besprochen werden. So ist bei der Betrachtung der in vitro-Versuche bemerkenswert, daß beide Medikamente eine nahezu gleichstarke nosemahemmende Wirkung in Bezug auf die aus den Mitteldärmen und Kotblasen gewonnenen Sporenzahlsummen aufweisen. Bei der Differenzierung der Summanden besonders am Versuchsende stellt sich heraus, daß Fumidil B den Mitteldarm sporenfrei macht und die Sporenzahl in der Kotblase stark reduziert; Esb₃ hingegen vermag die Sporenzahl der Kotblasen stärker zu reduzieren als die des Mitteldarmes.

Nach FRITZSCH (1970) läßt die getrennte Zählung der Sporen von Mitteldarm und Kotblase eine Beurteilung des nosemaciden Effektes eines Mittels insoweit zu, als die Abnahme der Sporenzahl im Mitteldarm den Grad der Wirksamkeit angibt. Demnach entsprechen seine Erkenntnisse - die völlige Sporenfreiheit des Mitteldarmes und ein deutliches Absinken der Sporenzahl in der Kotblase durch Fumagillin - den Ergebnissen, die in dieser Arbeit für Fumidil B gewonnen wurden. Seine histologischen Untersuchungen bestätigen diese Erfahrung, da er das Mitteldarmepithel regeneriert fand, was bei den infizierten Kontrollen nicht der Fall war. Da die Parasitenvermehrung im Mitteldarm und die Sporenbildung hauptsächlich in der Kotblase vor sich geht, zeigt das Gesagte, daß die nosemahemmende Wirkung dieses Mittels in der Störung der Vermehrungsphase zu suchen ist. Demgegenüber läßt die stärkere Verringerung der Sporenzahl der Kotblase gegenüber der des Mitteldarmes bei Esb₃ die Vermutung zu, daß Esb₃ einen anderen Angriffspunkt haben muß als Fumidil B. So könnte die stärkere Verringerung der Sporenzahl der Kotblase darauf hindeuten, daß Esb₃ die Heranbildung der Dauerform, die hauptsächlich dort vor sich geht, zu stören vermag. Nicht ohne Bedeutung dürfte wohl auch die Tatsache sein, daß Esb₃ eine zeitlich verzögerte Wirkung gegenüber Fumidil B erkennen läßt, woraus zu schließen ist, daß die verglichenen Pharmaka im selben Zeitraum eine unterschiedlich hohe Spo-

renbildungsintensität zulassen. Einen endgültigen Aufschluß über die verschiedene Wirkungsweise dieser beiden Medikamente kann aber nur eine histopathologische Untersuchung erbringen.

Vergleicht man die Werte aus den in vitro-Versuchen mit denen der Feldversuche, so tritt der therapeutische Effekt bei ersteren nahezu gleichzeitig ein, bei den Feldversuchen dagegen weist Esb₃ eine zweiwöchige Verzögerung der Sporenverringerung gegenüber Fumidil B auf. Die Lebenserwartung der Königinnen ist bei beiden Mitteln annähernd gleich und deutlich höher als bei den infizierten Kontrollvölkern. So konnten die Völker, denen Fumidil B verabreicht wurde, ihren geringen Totenfall durch die Substitution aus der Brut leicht auffangen. Die unter Esb₃ stehenden Völker dagegen waren trotz intensiver Brutnachzucht, die durch den starken Wabenzubau möglich war, nur mit entsprechender Verzögerung in der Lage, ihren anfänglich starken Totenfall auszugleichen, da der noseamahemmende Effekt von Esb₃ um zwei Wochen später im Vergleich zu Fumidil B einsetzte.

Bei den in vitro-Versuchen ist aus der Statistik zu schließen, daß Fumidil B und Esb₃ eine gleichstarke noseamahemmende Wirkung haben, wohingegen bei den Feldversuchen Fumidil B das Esb₃ in seiner Wirkung übertrifft, andererseits die bei Esb₃ gewonnenen Werte günstiger liegen als die der Kontrollvölker, was den noseamaciden Effekt auch dieses Mittels verdeutlicht.

Aus der hier bestätigten Tatsache heraus, daß Fumidil B derzeit das wirksamste Nosemacidum ist (BÜTCHER et al. 1964), bietet sich ein weiterer Vergleich mit dem Coccidiostaticum Esb₃ an, das als einziges von den geprüften eine noseamahemmende Wirkung zeigt. In der Handhabung übertrifft Esb₃ sogar Fumidil B, da es in lauwarmer 50 %iger Zuckerlösung, dem Nahrungsangebot für die Bienen während des Versuches, sofort in Lösung geht, während Fumidil B nach anfänglicher Verklumpung sich nur zögernd auflösen läßt.

Die hervorragende noseamahemmende Wirkung von Fumidil B (VORWOHL 1965; BRETSCHKO 1967) bleibt unbestritten. Esb₃ hingegen eröffnet in seiner Verwendung neue Aspekte in der Nosemathérapie.

Die Anwendungsmöglichkeit von Esb_3 zur Behandlung einer Nosemaerkrankung erscheint begrenzt, da es im Feldversuch im selben Zeitraum nicht die gleiche Verringerung der Sporenzahl erbrachte, wie es aus den Ergebnissen der in vitro-Versuche angenommen werden mußte. Ein hochnosematöses Volk dürfte kurz vor dem Zusammenbruch durch Einsatz von Fumidil B eher eine Überlebenschance haben als durch Esb_3 , da letzteres im Freiversuch eine Zeitverschiebung in seiner Wirkung gegenüber Fumidil B erkennen läßt. Einer akuten Erkrankung kann in diesem Stadium nur mit einem Mittel begegnet werden, das in kürzestem Zeitraum die beste nosemaartige Wirkung zeigt. Ein größerer materieller Aufwand ist in solchen Fällen unumgänglich. Bei leichtem Nosemabefall oder beginnender Seuche bietet sich aber auch der Einsatz von Esb_3 an und bei Massenbehandlungen wird sich dieses Mittel als das ökonomischere erweisen. Dem therapeutischen Effekt einer zweifellos starken Verringerung der Sporenzahl durch Esb_3 steht also die erreichbare Sporenfreiheit durch Fumidil B gegenüber.

Der jeweilige Erkrankungsfall muß deshalb exakt diagnostiziert und in seiner Schwere richtig eingeschätzt werden, um einen optimalen medikamentellen Einsatz möglich zu machen.

Welches Erregerstadium Esb_3 angreift, muß eine histologische und kulturelle Untersuchung erbringen; ob sich die vorliegenden Ergebnisse in der Praxis voll bestätigen lassen, können nur entsprechende Großversuche zeigen.

Auch der materielle Aufwand zur Therapie eines Volkes grenzt in seiner Gegenüberstellung die Verwendung des Medikamentes ein. So kostet eine Originalpackung zu 25 g Fumidil B und Fumagillin Mack DM 13.30; zur Therapie eines Volkes benötigt man 5 g, dies entspricht den Behandlungskosten von DM 2.66 bei beiden Pharmaka. Das erwähnte Nosemack ist demgegenüber bedeutend billiger. Eine Volksbehandlung damit kostet etwa DM 1.--, jedoch wird es mehr zur Vorbeuge als zur Heilung empfohlen (HANSSON 1962), wie es auch die Herstellerfirma angibt. Dieser Umstand ist natürlich bei einem Preisvergleich zu berücksichtigen.

Diesen handelsüblichen Nosema-Mitteln steht nun das Esb_3 gegenüber, von dem 250 g in der Originalpackung DM 25.-- kosten. Da zur Behand-

lung eines Volkes 10 g benötigt werden, entspricht dies einem Aufwand von DM 1.--. Fumidil B ist demnach 1 1/2 mal so teuer wie Esb₃.

Aus Gründen der besseren Übersicht sind die wichtigsten Vergleichspunkte zwischen diesen beiden Medikamenten noch einmal tabellarisch zusammengefaßt.

Vergleichspunkt	Fumidil B	Esb ₃
1. Nosemacide Wirkung (in vitro-Versuche)		
a) Verringerung der Gesamtsporenzahl		annähernd gleich
b) Sporenzahl in der Kotblase	stark reduziert	stärkere Reduzierung als im Mitteldarm
im Mitteldarm	sporenfrei	
2. Lebensdauer der Königin		annähernd gleich
3. Wabenerweiterungsbau	wenig	sehr stark
4. Ausgleich des Totenfalls durch die Brut	ausreichend	zögernd
5. Statistik	bei in vitro-Versuchen zeigt sich, daß zwischen Fumidil B und Esb ₃ kein Unterschied besteht. Beim Feldversuch erbringt sie: Fumidil B † Esb ₃ † K (+)	
6. Löslichkeit (in 50 %iger Zuckerlösung)	nur langsam in lauwarmem Zustand	spontan
7. Aufnahme	spontan	zögernd
8. Preis (für Behandlung eines Volkes)	ca. DM 2.66	ca. DM 1.--

V. ZUSAMMENFASSUNG

1. Zur Beurteilung der nosemaciden Wirkung von Coccidiostatica wurden im Sommer 1971 in vitro-Versuche und im Frühjahr 1972 Feldversuche durchgeführt.
2. Folgende Coccidiostatica kamen vergleichend zum Einsatz:
Amprolvet, Amprolvet Super, Coyden 25, Esb₃, Theracanzan, Eleudron, Darvisul-T, Whitsyn-S.
3. Neben dem in seiner nosemaciden Wirkung bekannten Fumidil B zeigte von den geprüften Medikamenten nur Esb₃ einen brauchbaren Effekt.
4. Die Wirkung von Fumidil B und Esb₃ wird verglichen.
5. Der Einsatz von Esb₃ als Nosemacidum wird diskutiert.
6. Histologische und kulturelle Untersuchungen werden neben großangelegten Feldversuchen empfohlen, um den genauen Wirkungsmechanismus von Esb₃ ermitteln und mit Fumidil B vergleichen zu können.

SUMMARY

1. For critical examination of nosemacidic effect of Coccidiostatica in summer 1971 in vitro - and in spring 1972 flying-cage experiments were done.
2. Comparatively the following Coccidiostatica were used:
Amprolvet, Amprolvet Super, Coyden 25, Esb₃, Theracanzan, Eleudron, Darvisul-T, Whitsyn-S.
3. Besides the known nosemacidic effect of Fumidil B, from the medicaments which were tested only Esb₃ showed an useful effect.
4. The effect of Fumidil B and Esb₃ is compared.
5. The using of Esb₃ as Nosemacidum is discussed.
6. For determination of the exact mechanism of effect of Esb₃ and for comparison with this of Fumidil B, besides large flying-cage experiments histological and cultural experiments are recommended.

VI. LITERATURVERZEICHNIS

- ALBERTI, G. (1954): Faktoren, die unter natürlichen Umweltbedingungen die Widerstandsfähigkeit der Sporen von *Nosema apis* beeinflussen.
Vet.-med. Diss. München
- ARMBRUSTER, L. (1937): Vom Lebenslauf der Arbeitsbiene.
Arch. Bienenk. 18, 257-311
- BÄHRMANN, R. (1967): Abnormitäten bei nosemakranken Arbeitsbienen.
Angew. Parasit. 8, 151-156
- BORCHERT, A. und M. v. DEHN (1931): Einige Untersuchungen über die Lebensdauer und Widerstandsfähigkeit gegen Temperatureinflüsse bei Dauerformen von *Nosema apis* Zander.
Arch. Bienenk. 12, 336-347
- BORCHERT, A. (1950): Krankheiten der Honigbiene.
6. Aufl., Verlag der Leipziger Bienenzeitung
- BORCHERT, A. (1966): Die Krankheiten und Schädlinge der Honigbiene.
S. Hirzel Verlag Leipzig
- BÖTTCHER, F.K.; H. HIRSCHFELDER und K. WEISS (1962): Die Tätigkeit der Bayerischen Landesanstalt für Bienenzucht Erlangen im Jahre 1961.
Der Imkerfreund, 17, 74-82
- BÖTTCHER, F.K.; H. HIRSCHFELDER und K. WEISS (1963): Die Tätigkeit der Bayerischen Landesanstalt für Bienenzucht Erlangen im Jahre 1962.
Der Imkerfreund, 18, 74-80
- BÖTTCHER, F.K.; H. HIRSCHFELDER und K. WEISS (1964): Die Tätigkeit der Bayerischen Landesanstalt für Bienenzucht Erlangen im Jahre 1963.
Der Imkerfreund 19, 67-74
- BÖTTCHER, F.K.; H. HIRSCHFELDER und K. WEISS (1970): Die Tätigkeit der Bayerischen Landesanstalt für Bienenzucht Erlangen im Jahre 1969.
Der Imkerfreund 25, 74-89

- BRETSCHKO, J. (1963): Fumidil-Eiweiß-Nosema
Bienenvater 84, 103-108
- BRETSCHKO, J. (1967 a): Methodische Verbesserungen bei Reihenuntersuchungen von Bienen auf Tracheenmilben und Nosemasporen.
Z. Bienenforsch. 9, 97-104
- BRETSCHKO, J. (1967 b): Einfluß von Eiweiß und Vitamin C auf den Nosemainfektionsverlauf im Frühjahr.
Der Imkerfreund 22, 108-110
- Bundeslehr- und Versuchsanstalt für Bienenkunde Wien,
Merkblatt Nr. 47 (1964): Bekämpfung der Nosemaseuche mit Fumidil B.
Bienenvater 85, 161
- BUZA, L. (1965): Versuche über die Anwendung von arzneihaltigen Futterteigen.
In: Der XX. Internationale Jubiläumskongreß der Bienenzüchter (Bukarest), 510-512
Verlag der Apimondia, Bukarest-Rumänien
- DREHER, K. (1968): Die Biene, volkswirtschaftlich das viertwichtigste Haustier.
Die Biene 104, 274-276
- FEILING, O. (1965): Die staatliche Bekämpfung der Bienen-seuchen in Vergangenheit und Gegenwart.
Dtsch. Bienenwirtsch. 16, 205-213
- FRITZSCH, W. (1970): Erprobung eines Heilmittels gegen Nosematose.
Arch. exp. Vet.-med. 24, 952-984
- GONTARSKI, H. (1954): Über die Wirkungsweise von Nosemack.
Dtsch. Bienenwirtsch. 5, 185-188
- GONTARSKI, H. (1955): Die Nosemaerkrankung der Biene im Frühjahr und ihre Bekämpfung.
Dtsch. Bienenwirtsch. 6, 160-161
- GONTARSKI, H. und D. MEBS (1964): Eiweißfütterung und Nosemaentwicklung
Z. Bienenforsch. 7, 53-62

- GONTARSKI, H. und
O. WAGNER (1954):
Quantitative Versuche zur chemotherapeutischen Bekämpfung der *Nosema apis* Zander bei der Honigbiene.
Arzneimittelforschung 4, 161-168
- GOTTSCHALK, C. (1970):
Zur Begriffsbestimmung des Parasitismus.
Angew. Parasit. 11, 164-166
- HALLMANN, L. (1966):
Klinische Chemie und Mikroskopie.
10. Aufl. Georg Thieme Verlag Stuttgart
- HANSSON, Å. (1962):
Bekämpfung der *Nosema*.
Bitidningen 60, 95, 1961
Ref. in: Dtsch. Bienenwirtsch. 13, 118
- HEIM, H.S. (1970):
Zur Sulfonamidtherapie der Geflügelkokzidiosen.
Wien. tierärztl. Mschr. 57, 375-386
- HELWIG, H. (1970):
Antibiotika - Chemotherapeutica.
Georg Thieme Verlag Stuttgart
- HEROLD, E. (1956):
Nosema und *Nosemack*.
Der Imkerfreund 11, 278-280
- HEROLD, E. (1969):
Augen offen für *Nosema*!
Der Imkerfreund 24, 129-130
- HRISTEA, C.L. (1969):
Vorbeugende arzneiliche und heilende Fütterung der Bienen.
In: Der XXII. Internationale Bienenzüchterkongreß (München)
Verlag der Apimondia, Bukarest-Rumänien
- JACHIMOWICZ, T. (1966):
Hygiene am Bienenstand - Voraussetzung für den Fortbestand der Bienenzucht.
Bienenvater 87, 137-140
- JORDAN, R. (1962):
Befällt der Parasit *Nosema apis* Zander außer dem Mitteldarm auch noch andere Organe der Biene?
Bienenvater 83, 68-74
- JORDAN, R. (1963):
Zur mikroskopischen *Nosema*feststellung.
Dtsch. Bienenwirtsch. 14, 137-139

- JORDAN, R. (1965):
Zuchthygienische Maßnahmen zur Verhütung der Nosemaverbreitung durch Königinnen.
Bienenvater 86, 5-6
- LOTMAR, R. (1936):
Nosemainfektion und ihr Einfluß auf die Entwicklung der Futtersaftdrüsen.
Schweiz. Bienenz. 59, 100-104
- LOTMAR, R. (1940):
Über den Infektionsverlauf und Vermehrung des Parasiten *Nosema apis* (quantitative Untersuchungen).
Landw. Jb. Schweiz 54, 792-805
- MOFFETT, O.;
J.J. LACKETT und
J.D. HITCHCOCK (1969):
Compounds tested for Control of *Nosema* in honey bees.
J. Economic. Entomol. 62, 886-889
- OERTEL, E. (1967):
Colony disturbance and *Nosema* disease.
J. apicult. Res. 6, 119-120
- POPA, A. (1961):
Contribution à l'étude de la *Nosemose* dans la république populaire roumaine Journées internationales de Pathologie apicole Madrid.
L'Office International des Epizooties 226-234
- REHM, H. (1968):
Untersuchungen über die Beeinträchtigung der Flugbiene von *Apis mellifica* durch Unkrautbekämpfungsmittel (MH 30, U 46 KV-Combi-Fluid, mit Citowettzusatz).
Vet.-med. Diss. München
- SCHMUCKER, K. (1964):
10 Jahre Nosemabekämpfung mit Nosemack.
Dtsch. Bienenwirtsch. 15, 59-60
- SHIMANUKI, H. und
G.E. CANTWELL (1969):
Wärme und Äthylenoxid bei der Verhütung von Nosemaseuche.
In: Der XXII. Internationale Bienenzüchterkongreß (München).
Verlag der Apimondia, Bukarest-Rumänien
- STECHE, W. (1960):
Ätiologie und Therapie der Nosematose der Honigbiene.
Z. Bienenforsch. 5, 49-92

- STECHE, W. (1963): Weitere Untersuchungen über die Biologie von *Nosema apis*.
Z. Bienenforsch. 6, 137-138
- STECHE, W. (1968): Ein nasser Sommer - und die *Nosema*?
Allg. Dtsch. Imkerz. 2, 383-388
- VORWOHL, G. (1966): Vergleichende Untersuchungen über den Einfluß von Nosemack- und Fumidil B-haltigem Futterteig auf das Ausmaß der *Nosema*-Parasitierung von Bienenvölkchen im Einwabenkästchen.
Z. Bienenforsch. 8, 323-331
- WEBER, F. (1972): Grundriß der biologischen Statistik.
Gustav-Fischer-Verlag, Stuttgart
- WEISKE, W. (1971): *Nosema* und kein Ende.
Der Imkerfreund 26, 5-6
- WILDFÜHR, W. und
W. FRITZSCH (1969): Die Feinstruktur der Sporen von *Nosema apis*.
Angew. Parasit. 10, 39-52
- ZANDER, F. (1947): Handbuch der Bienenkunde in Einzeldarstellungen.
II. Krankheiten und Schädlinge der erwachsenen Bienen.
5. Aufl., Eugen Ulmer-Verlag, Stuttgart

LEBENS LAUF

Am 9. Juni 1944 wurde ich als Sohn des Notars Dr. Bernhard Kienle und seiner Ehefrau Carola, geb. Bisinger, in Schwabmünchen bei Augsburg geboren.

Von 1950 bis 1955 besuchte ich die Volksschule Miesbach; am humanistischen Gymnasium Tegernsee erlangte ich im Juli 1964 die Hochschulreife.

Von Oktober 1964 bis Juli 1969 studierte ich an der Universität München und schloß mein tierärztliches Studium am 15. Juni 1970 mit dem Staatsexamen ab.

Seit März 1970 bin ich Doktorand am Zoologisch-Parasitologischen Institut der Universität München.

